

---

# Masterarbeit

---

Frau  
**B. Sc. Fröbel, Sarah**

Mittweida, 25.08.2014



## **Masterarbeit**

---

# **Etablierung standardisierter Identifikationsparameter auf mikroskopischer Ebene zur artspezifischen Klassifizierung lederbefallender Schimmelpilze**

Autor:  
**Frau**

**B. Sc. Fröbel, Sarah**

Studiengang:  
**Molekularbiologie/Bioinformatik**

Seminargruppe:  
**MO12w1-M**

Erstprüfer:  
**Prof. Dr. rer. nat. Dirk Labudde**

Zweitprüfer:  
**M. Sc. Marleen Kreuzer**

Einreichung:  
**Mittweida, 25. 08. 2014**

Verteidigung/Bewertung:  
**Mittweida, 28.08. 2014**



## **Masterthesis**

---

# **Establishment of standardized identification parameters at a microscopic level for the species specific classification of molds affecting on leather**

author:  
**Ms.**

**B. Sc. Sarah Fröbel**

course of studies:  
**Molecular Biology/ Bioinformatics**

seminar group:  
**MO12w1-M**

first examiner:  
**Prof. Dr. rer. nat. Dirk Labudde**

second examiner:  
**M. Sc. Marleen Kreuzer**

submission:  
**Mittweida, 25.08. 2014**

defence/ evaluation:  
**Mittweida, 28.08.2014**



**Abstract**

In the context of this work information about the standardized distinction was collected by leather affecting molds. Reason for it supplies the research institute for leather and art trains (FILK). Molds affect the stock levels and should most possible as well as economically be identified fastest to start corresponding countermeasures and protect staff sufficiently. To this an open source website containing the micros- and macroscopic, sequential and molecular phylogenetic determination features set up. At the information giving side to micros- and macroscopic are deposit illustrations as well as stencils. Moreover, the data of the molds elements which serve for the distinction are listed. The information collection and draft of the data to the area of sequential and the molecular phylogenetic determination features is based on another work of the University of Mittweida and was also integrated by cooperation on the side. On the following pages essentials of the molds and the approaches to the molds diagnostics of interested molds are described. Furthermore, the result representation by the website is explained.

**Bibliographische Beschreibung:**

Fröbel, Sarah. Etablierung standardisierter Identifikationsparameter auf mikroskopischer Ebene zur artspezifischen Klassifizierung lederbefallender Schimmelpilze. - 2014. - Inhaltsverzeichnis I-III; Abbildungsverzeichnis IV; Tabellenverzeichnis V;

Mittweida, Hochschule Mittweida, Fakultät MNI, Masterarbeit, 2014

**Englischer Titel**

Establishment of standardized identification parameters at a microscopic level for the species specific classification of molds affecting on leather

**Referat:**

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Informationen zur standardisierten Differenzierung von lederbefallenden Schimmelpilzen zusammengetragen. Anlass dazu liefert das Forschungsinstitut für Leder und Kunstbahnen (FILK). Schimmelpilze befallen die Lagerbestände und müssen schnellst möglichst sowie kostengünstig identifiziert werden, um entsprechende Gegenmaßnahmen einzuleiten und Personal ausreichend zu schützen. Dazu wurde eine frei verfügbare Webseite eingerichtet die mikros- und makroskopische, sequenzielle und molekularphylogenetische Bestimmungsmerkmale enthält. Auf den informationsgebenden Seiten zu mikros- und makroskopisch sind bekleidende Abbildungen sowie Schablonen hinterlegt. Zudem sind die Daten der Pilzelemente aufgelistet, die zur Differenzierung dienen. Die Informationssammlung und Ausarbeitung der Daten zum Bereich sequenziell und der molekularphylogenetischen Bestimmungsmerkmale ist Grundlage einer anderen Arbeit der Hochschule Mittweida und wurde durch Zusammenarbeit ebenfalls auf die Seite integriert. Auf den folgenden Seiten sind Grundlagen der Schimmelpilze und die Herangehensweise der Schimmelpilzdiagnostik von interessierenden Schimmeln beschrieben. Zudem ist die Ergebnisdarstellung durch die Webseite erläutert.



## **Danksagung**

Zunächst möchte ich mich bei Prof. Dr. rer. nat. Dirk Labudde für die Betreuung meiner Arbeit bedanken. Zudem gab er mir die Möglichkeit, diese Arbeit in diesem Rahmen durchzuführen und stand für Fragen immer zu Verfügung.

Weiterhin bedanke ich mich bei meinem Partner Alexander für seine moralische Unterstützung, sein großes Verständnis und gutes Zureden.

Meiner Oma Gisela und meinem Opa Gerd danke ich für jedes Mittagessen, jeden Einkauf und jeden Handgriff im Haushalt während der Masterphase.

Dank gilt meinen Eltern Grit und Marcus, die mir dieses Studium ermöglicht haben und immer an mich geglaubt haben. Zusätzlich danke ich meiner Mutti Grit für die Fehlerkorrektur meiner Arbeit.

Ich danke meinem Sohn Emil, durch den ich immer wusste, dass es weiter geht, egal wie.

Zum Schluss bedanke ich mich bei den Betreuern Mandy, Anne, Irene und Anna der Kinder Grippe, so dass ich meinen Sohn einen Monat vor Abgabe der Arbeit für 3 Stunden täglich abgeben konnte.

Zuerst ignorieren sie dich, dann lachen sie über dich, dann bekämpfen sie dich und dann gewinnst du.

Mohandas Karamchand Gandhi (1869-1948)

## Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis .....</b>	<b>I</b>
<b>Abbildungsverzeichnis.....</b>	<b>IV</b>
<b>Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>VI</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>VII</b>
<b>Begriffserklärungen.....</b>	<b>VIII</b>
<b>1 Einleitung und Grundlagen .....</b>	<b>1</b>
1.1 Pilze allgemein.....	1
1.1.1 zellulärer Aufbau .....	1
1.1.2 Einteilung.....	3
1.2 Schimmelpilze allgemein.....	7
1.2.1 vegetatives Hyphenwachstum.....	7
1.2.2 Fortpflanzungsorgane .....	8
1.2.3 Differenzierungsmerkmale .....	8
1.2.4 Mykotoxine und Mykosen .....	9
1.3 Lebenszyklen ausgewählter Schimmelpilzklassen .....	10
1.3.1 Lebenszyklus der <i>Ascomyceten</i> .....	10
1.3.2 Lebenszyklus der <i>Zygomyceten</i> .....	12
1.3.3 Lebenszyklus der <i>Deuteromyceten</i> .....	12
1.4 Metabolismen der Schimmelpilze .....	13
<b>2 Problemstellung .....</b>	<b>15</b>
<b>3 Material.....</b>	<b>16</b>
3.1 Zygomyceten ( <i>Mucor</i> ) .....	16
3.2 Ascomyceten ( <i>Trichoderma</i> ) .....	16
3.3 Deuteromyceten ( <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Aureobasidium</i> , <i>Epicoccum</i> , <i>Fusarium</i> ) .....	16
3.4 Universalnährmedien .....	17
3.5 Medien zur Webpräsentation .....	17
<b>4 Methoden .....</b>	<b>18</b>
4.1 Herstellung eines mikroskopischen Präparats .....	18
4.1.1 Zupf-/Abdruckpräparat mit NaCl/Lactophenolblau (Tuschepräparation) ..	18

4.1.2	Deckglaskultur I (Agarblockmethode) .....	18
4.1.3	Deckglaskultur II (Agorausschnitt).....	19
4.1.4	Reis-Agar (Lebenspräparat).....	19
4.2	mikroskopische Differenzierung.....	21
4.2.1	<i>Zygomyceten</i> .....	11
4.2.2	<i>Ascomyceten</i> .....	25
4.2.3	<i>Deuteromyceten</i> .....	26
4.3	Webpräsentation .....	32
4.3.1	Anforderungen .....	32
4.3.2	Ansprüche .....	33
4.3.3	Webseitengestaltung .....	33
4.3.4	Webseitenaufbau.....	34
<b>5</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>43</b>
5.1	<i>Alternaria alternata</i> .....	43
5.2	<i>Alternaria tenuissima</i> .....	43
5.3	<i>Aspergillus glaucus</i> .....	44
5.4	<i>Aspergillus niger</i> .....	45
5.5	<i>Aspergillus penicillioides</i> .....	46
5.6	<i>Aspergillus versicolor</i> .....	47
5.7	<i>Aureobasidium pullulans</i> .....	48
5.8	<i>Cladosporium cladosporioides</i> .....	49
5.9	<i>Cladosporium herbarum</i> .....	50
5.10	<i>Epicoccum nigrum</i> .....	50
5.11	<i>Fusarium oxysporum</i> .....	51
5.12	<i>Fusarium solani</i> .....	51
5.13	<i>Penicillium chrysogenum</i> .....	52
5.14	<i>Penicillium funiculosum</i> .....	53
5.15	<i>Penicillium glaucum</i> .....	54
5.16	<i>Trichoderma harzianum</i> .....	54
5.17	<i>Trichoderma viride</i> .....	54
<b>6</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>57</b>
<b>7</b>	<b>Ausblick .....</b>	<b>59</b>

7.1	Datenbank .....	59
7.2	Taxonomie .....	60
7.3	Detaillierte Abbildungen und Schablonenerzeugung .....	60
7.4	Stoffwechselbetrachtung und Mutanten .....	61
<b>8</b>	<b>Fazit.....</b>	<b>62</b>
<b>9</b>	<b>Summary.....</b>	<b>63</b>
<b>10</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>XI</b>
	<b>Selbstständigkeitserklärung.....</b>	

## **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Phylogenetischer Baum - Pflanzen-Tiere-Pilze (URL1, 2009) .....	2
Abbildung 2: Aufbau Pilzzelle und -zellwand.....	3
Abbildung 3: Einteilung der Pilze .....	5
Abbildung 4: septierte Hyphen im mikroskopischen Präparat (URL2, 2012) .....	6
Abbildung 5: unseptierte Hyphen im mikroskopischen Präparat (Hoc, November 2002).....	6
Abbildung 6: Lebenszyklus der <i>Neurospora crassa</i> (Aign, 2002).....	11
Abbildung 7: Lebenszyklus von <i>Mucor mucedo</i> (D. H. O`Day, 1981).....	13
Abbildung 8: Methoden der Schimmelpilzdiagnostik .....	20
Abbildung 9: Mikroskopische Einteilung der Schimmelpilze.....	21
Abbildung 10: Ungeschlechtlicher "Vermehrungsapparat" – <i>Mucor</i> [Rüschendorf, 2007] .....	23
Abbildung 11: Formen der Columella [nach (M. Kirchmair, 2001) .....	23
Abbildung 12: Mikroskopische Differenzierung von <i>Mucor</i> .....	24
Abbildung 13: Mikroskopisches Bild - <i>Mucor</i> sp. (García-Romero MT, 2011).....	24
Abbildung 14: Mikroskopische Differenzierung von <i>Trichoderma</i> .....	26
Abbildung 15: Mikroskopische Pilzelemente von <i>Aspergillus spp.</i> und <i>Penicillium spp.</i> (nach (Rüschendorf, 2007)) .....	27
Abbildung 16: Verzweigungsarten von <i>Penicillium spp.</i> (nach (M. Kirchmair, 2001)) .....	28
Abbildung 17: Mikroskopisches Erscheinungsbild von <i>Fusarium</i> .....	29
Abbildung 18: Mikroskopisches Erscheinungsbild von <i>Alternaria spp.</i> .....	30
Abbildung 19: Mikroskopische Bestimmungsmerkmale von <i>Cladosporium</i> .....	30
Abbildung 20: Mikroskopische Bestimmungsmerkmale von <i>Epicoccum spp.</i> .....	31
Abbildung 21: Mikroskopische Bestimmungsmerkmale von <i>Aureobasidium spp.</i> .....	32
Abbildung 22: Auszug aus <i>menue.html</i> .....	34
Abbildung 23: Exemplarische Darstellung der Navigation bis zur dritten Ebene.....	35
Abbildung 24: Einbindung in das HTML-Dokument.....	35
Abbildung 25: Makroskopische Bildervorschau am Beispiel <i>Alternaria alternata</i> .....	36
Abbildung 26: Modales Dialogfenster.....	37
Abbildung 27: Ausschnitt aus dem Code des Dialogfensters .....	38
Abbildung 28: Box des Webseitenmenüs Bildband .....	39

Abbildung 29: Auszug aus der Datei <i>bildband.html</i> .....	27
Abbildung 30: Accordion-Struktur des Fachtermini-Bereichs .....	40
Abbildung 31: Umsetzung der Accordion-Struktur.....	41

## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Vergleich - Tiere, Pilze, Pflanzen.....	2
Tabelle 2: Ergebnissteil von <i>Alternaria alternata</i> .....	43
Tabelle 3:Ergebnissteil von <i>Alternaria tenuissima</i> .....	44
Tabelle 4: Ergebnissteil von <i>Aspergillus glaucus</i> .....	44
Tabelle 5: Ergebnissteil von <i>Aspergillus niger</i> .....	46
Tabelle 6: Ergebnissteil von <i>Aspergillus penicillioides</i> .....	46
Tabelle 7: Ergebnissteil von <i>Aspergillus versicolor</i> .....	48
Tabelle 8: Ergebnissteil von <i>Aureobasidium pullulans</i> .....	48
Tabelle 9: Ergebnissteil von <i>Cladosporium cladosporioides</i> .....	49
Tabelle 10: Ergebnissteil von <i>Cladosporium herbarum</i> .....	50
Tabelle 11: Ergebnissteil von <i>Epicoccum nigrum</i> .....	50
Tabelle 12: Ergebnissteil von <i>Fusarium oxysporum</i> .....	51
Tabelle 13: Ergebnissteil von <i>Fusarium solani</i> .....	52
Tabelle 14: Ergebnissteil von <i>Penicillium chrysogenum</i> .....	52
Tabelle 15: Ergebnissteil von <i>Penicillium funiculosum</i> .....	53
Tabelle 16: Ergebnissteil von <i>Penicillium glaucum</i> .....	54
Tabelle 17: Ergebnissteil von <i>Trichoderma harzianum</i> .....	54
Tabelle 18: Ergebnissteil von <i>Trichoderma viride</i> .....	55
Tabelle 19: Mikroskopischer Vergleich von <i>Alternaria</i> .....	55
Tabelle 20: Mikroskopischer Vergleich von <i>Aspergillus</i> .....	56
Tabelle 21: Mikroskopischer Vergleich von <i>Cladosporium</i> .....	56



**Abkürzungsverzeichnis**

ACT	Actin-like protein gen
ALP	Alkaline phosphatase
CSS	Cascading Style Sheets
DB	Datenbank
DBMS	Database Management System
DDBJ	DNA Data Bank of Japan
DNA	Desoxyribonukleotid acid
EMBL	European Molecular Biology Laboratory
HTML	Hypertext Markup Language
ID	Identifikation
ITS	Internal transcribed spacer
NaCl	Natriumchlorid
NCBI	National Center for Biotechnology Information
PHP	Hypertext Preprocessor
RNA	Ribonukleotid acid
RPB	DNA-directed RNA polymerase II subunit RPB(Nummer)
rRNA	ribosomal Ribinukleotid acid
<i>spp</i>	sub-species
SQL	Structured Query Language
TEF	Translation elongation factor (Nummer)
TOP	Topoisomerase
$\beta$ -Tubulin	Class III $\beta$ -Tubulin

## **Begriffserklärungen**

Apikalzelle	auch Scheitelzelle, meristematische Zelle u.A. bei Pilzen
Apophyse	Anschwellung einer Hyphe unterhalb des Sporangiums
Ascomata	auch Ascokarp, Fruchtkörper aller <i>Ascomyceten</i>
Asci/Ascus	geschlechtliches Fortpflanzungsorgan aller <i>Ascomyceten</i>
Cellulase	Enzyme die in der Lage sind, Cellulose abzubauen
Chitin	Polysaccharid, welches der Strukturbildung dient
Cluster	Gruppierung von Objekten mit ähnlichen/gleichen Eigenschaften
Colarette	auch Basalkragen, Teil des gelösten Sporangiums nach der Sporulation einiger <i>Mucorales</i>
Columella	Inneres des sporangiumtragenden Teils, das Innere eines reifen vegetativen oder sexuell entstandenen Sporangiums
Dimorphismus	Vorkommen von zwei Wachstumsausprägungen beim Schimmelpilz
Diplophase	geschlechtliche Vermehrungsphase im Lebenszyklus der Schimmelpilze
endogene Sporen	werden durch einen Sporenbehälter gebildet
Ergosterin	Naturstoff der pilzlichen Mycosterine
exogene Sporen	werden direkt von der Hyphe abgegrenzt
Feuchtekammer	steriler Aufbewahrungsbehälter mit hoher Feuchtigkeit (realisiert z.B. nasses Zellstoff)
Gametangien	„Behälter“ (Botanik) mit enthaltenen sexuell differenzierten Fortpflanzungszellen (Gameten, dienen der geschlechtlichen Fortpflanzung)
generativ	geschlechtliche Fortpflanzung
Glucan	Polysaccharide die nur aus D-Glucose aufgebaut sind, über glycosidische Bindung verknüpft
Haplophase	ungeschlechtliche Vermehrungsphase im Lebenszyklus der Schimmelpilze
heterothallisch	Fortpflanzungsmechanismus von Pilzen, Die sexuellen Vorgänge finden ausschließlich zwischen genetisch differenten Geschlechtsorganellen statt.

heterotroph	Verwendung organischer Stoffe als Energiequelle (chem. Abbau) als auch zum Aufbau körpereigener Stoffe
Homologie	evolutionär bedingte Übereinstimmung von Merkmalen
Hyphe(n)	fadenförmiges Pilzzellgeflecht
immunsuppressiv	Unterdrückung eines immunologischen Prozesses
Ingestion	Aufnahme eines Stoffes über den Mund in den Verdauungstrakt
kanzerogen	krebsauslösend
Karyogamie	Verschmelzung von Zellkernen während der Fortpflanzung
Konidien	asexuell entstandene Sporen
Läsion	Schädigung anatomischer Struktur
Makrokonidien	mehrkernige Konidien, die durch die Abschnürung von Myzelien bei der ungeschlechtlichen Fortpflanzung entstehen
Mannane	Epimer der Glucose, Bestandteil von Membranen, Polysaccharid
Metabolit	Zwischenprodukt eines Stoffwechselweges
Mikrofilamente	fadenförmige Proteinstrukturen eukaryotischer Zellen
Mikrokonidien	einkernige Konidien, die bei der ungeschlechtlichen Fortpflanzung direkt aus der Zelle ausgestoßen werden, Myzel Gesamtheit aller Hyphen
Perithecium	Fruchtkörper der <i>Ascomyceten</i>
pheromongesteuert	durch Pheromone (Botenstoffe zur Informationsübertragung) angetrieben/ bewegt
Phialidien	konidogene Zelle am Ende des Konidophors
phytopathologisch	Erkrankungen an Pflanzen
Plasmogamie	Verschmelzung des Zellplasmas bei der sexuellen Vermehrung
Protoperithecium	ist eine Anlage (Primordium) die, wenn sie befruchtet wird, zum Fruchtkörper (Perithecium) heranwächst
Respirationstrakt	Atmungsapparat, dazu gehören alle für die Atmung notwendigen Organe
Sekundärmetabolit	sekundäres Stoffwechselprodukt von Pflanzen, Bakterien und Pilzen, für das Überleben und Wachsen nicht notwendig
Septe(n)	Querwand (Scheidewand) in Hyphen
Sporangiophore	Sporangienträger

Sporangium	beinhaltet die Sporen (Sporangiosporen)
Sporen	spezielle Zellen, die zur Vermehrung dienen
Stolon	Laufhyphe, Hyphe, die zu einer schnellen Ausbreitung des Pilzes führt
teratogen	Einwirkungen, die Fehlbildungen beim Ungeborenen auslösen können
Thallophyt(en)	vielzellige Organismen, deren Vegetationskörper nicht die typische Gliederung (Wurzel, Spross, Blatt) aufweist
Trichogyne	längliches Empfängnisorgan der <i>f</i> Gametangien von <i>Ascomyceten</i>
ubiquitär	überall vorkommend
vegetativ	ungeschlechtliche Fortpflanzung
Zygosporangium	ist ein Sporangium, welches eine einzelne Zygospore bildet
Zygote	Zelle, die durch Verschmelzung zweier haploider Geschlechtszellen (Gameten) entsteht

# **1 Einleitung und Grundlagen**

Diese Einleitung gibt einen Einblick in das Reich der Pilze. Dabei wird das Thema „Pilz“ nur kurz erläutert, bis schließlich zum Hauptaugenmerk, den Schimmelpilzen übergeleitet wird.

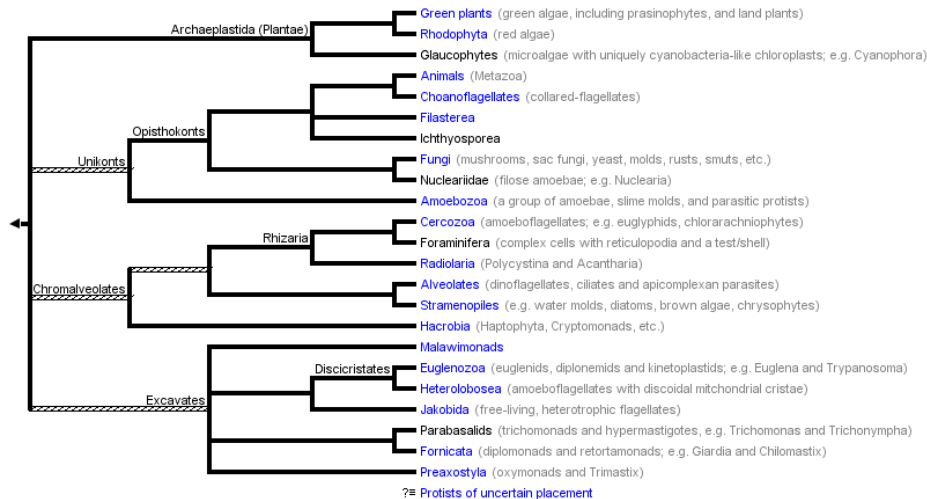
## **1.1 Pilze allgemein**

Rund 40% der Biomasse auf der Erde wird durch das Reich der Pilze eingenommen (Hahn, 2009). Dabei handelt es sich um Eukaryoten, die zusätzlich den Thallophyten zugeordnet werden. Von Pflanzen und Algen grenzen sie sich durch eine heterotrophe Lebensweise ab. Das heißt, sie sind, wie z.B. Bakterien, nicht zur Photosynthese fähig. Einige Pilze leben saprophytär, so dass sie ihre Nährstoffe totem organischem Material entnehmen. Andere wiederum leben in Symbiose (z.B. Mykorrhiza) oder parasitär (z.B. Micropilz) mit oder auf Pflanzen, aber auch Tieren (Rüschendorf, 2007; Hof & Dörries, 2009). Schon 1650 klassifizierte man Pilze, wie heute auch noch, nach botanischen Gesichtspunkten. Ein wichtiges grundlegendes Unterscheidungsmerkmal ist die Art der Fortpflanzung. Anhand der Sporen und des Fruchtkörpers, lässt sich der sexuelle vom asexuellen Entwicklungszyklus differenzieren. Grundsätzlich werden Pilze, die sexuelle Sporen ausbilden können, als *Fungi perfecti* (perfekte Pilze) zusammengefasst. Als *Fungi imperfecti* (imperfekte Pilze) werden hingegen alle die zugeordnet, von denen bisher nur die Sporen des asexuellen Entwicklungszyklus publik sind (C. Seebacher, 1990).

### **1.1.1 zellulärer Aufbau**

Wie bereits angedeutet, zählen Pilze weder zu den Pflanzen noch zu den Tieren. Betrachtet man die evolutionäre Verwandtschaft in einem phylogenetischen Baum, werden die Verhältnisse sichtbar (Abb. 1). Vergleicht man diese drei Gruppen miteinander, ergeben sich verschiedene Parallelen (Tab. 1).

Wie unter anderem aus Tabelle 1 hervorgeht, besitzen Pilze im Gegensatz zur animalischen Zelle eine komplexe Zellwand. Genauer betrachtet, besteht diese aus Chitin und Glucan (Grundgerüst), sowie verschiedenen Proteinen, Mannanen, Mannanproteinen und teilweise Pigmenten (auch Abb. 2).



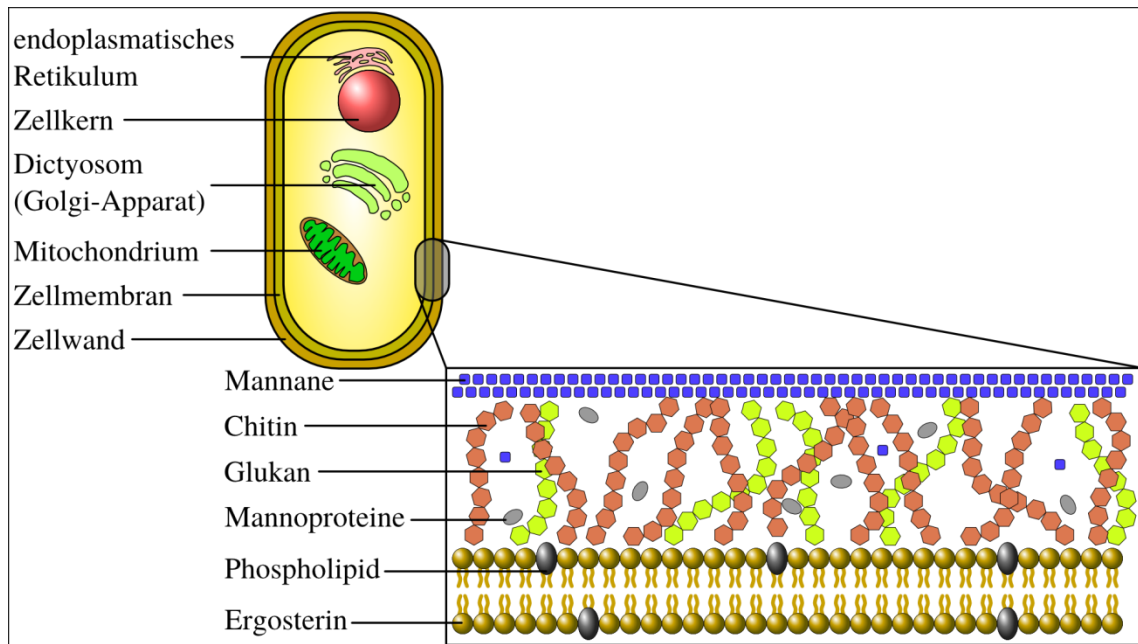
**Abbildung 1: Phylogenetischer Baum - Pflanzen-Tiere-Pilze (URL1, 2009)**

Die Abbildung zeigt einen phylogenetischen Baum mit ausgehendem Wurzelpunkt der Eukaryoten. Zu sehen ist, dass die Pilze eine engere Verwandtschaft zu Tieren aufweisen als zu Pflanzen.

**Tabelle 1: Vergleich - Tiere, Pilze, Pflanzen**

	<b>Tiere</b>	<b>Pilze</b>	<b>Pflanzen</b>
<b>Plastiden</b>	fehlen	fehlen	vorhanden
<b>Zellwand</b>	keine	Chitin, Glucan	Zellulose, Pektin
<b>Reservestoffe</b>	Lipide	Glycogen, Lipide	Stärke
<b>(Vegetations-) Körper</b>	hoch entwickelt („Gewebe“)	Hyphen	Thallus/Cormus („Gewebe“)
<b>Sporen</b>	fehlen	vorhanden	vorhanden
<b>Ernährung</b>	heterotroph	heterotroph	photoautotroph
<b>Lebensweise</b>	saprophytisch, parasitär, symbiontisch, carnivor	saprophytisch, parasitär, symbiontisch	photoautotroph (wenige parasitär, symbiontisch)

Die Tabelle zeigt einige ausgewählte Punkte betreffend Tiere, Pilze und Pflanzen. Gemeinsamkeiten zwischen Tieren und Pilzen wurden blau unterlegt, zwischen Pflanzen und Pilzen flieder.



**Abbildung 2: Aufbau Pilzzelle und -zellwand**

Oben im Bild ist eine schematische Abbildung einer Pilzzelle dargestellt, in die alle lebensnotwendigen Organellen eingezeichnet sind. Rechts unten ist ein Ausschnitt aus der Zellwand illustriert. Diese Vergrößerung zeigt deutlich die Unterschiede zur pflanzlichen bzw. animalischen Zelle.

Bei der zytoplasmatischen Membran handelt es sich, wie so oft in biologischen Systemen, um eine Lipiddoppelschicht. Die Abgrenzung zur tierischen und auch menschlichen Zelle ist der Hauptlipidkörper Ergosterin, ein Steroid der pilzlichen Zelle. Pilze besitzen ein großes Genom. Die Gene liegen verteilt auf mehreren Chromosomen, wobei deren Anzahl zwischen den Gattungen stark schwankt. Je nach Art kann der Chromosomensatz haploid aber auch diploid sein. Der Zellkern ist, wie bei allen eukaryotischen Zellen, von einer Zellkernmembran umgeben. Das darin befindliche Erbmateriale ist dem des Menschen sehr ähnlich (Rüschendorf, 2007).

### 1.1.2 Einteilung

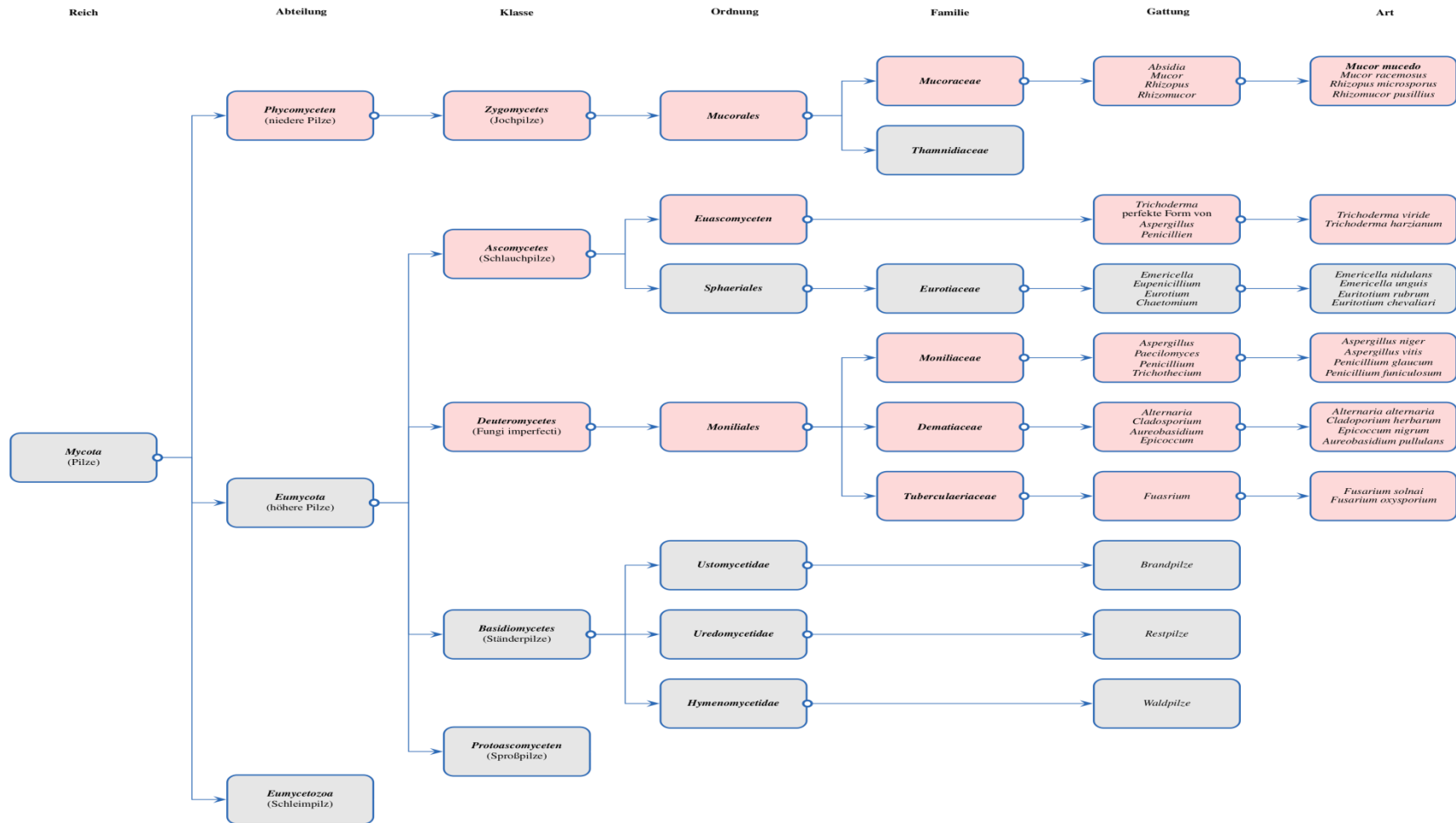
Die bekannteste und wohl am häufigsten verwendete Einteilung ist das DHS-System (Dermatophyten, Hefepilze, Schimmelpilze). Bei Dermatophyten handelt es sich um Fadenpilze die in keratinhaltiges Gewebe vordringen und dieses schließlich schädigen oder sogar abbauen. Hefen dagegen sind Sprosspilze. Der Unterschied wird in der Vermehrung sichtbar, die hier allerdings nicht besprochen wird. Schimmelpilze fasst man allgemein unter filamentösen Pilzen zusammen. Angespielt wird dabei auf

Mikrofilamente, die zusammen mit zwei weiteren Einheiten (Mikrotubuli, Intermediärfilamenten) das Zytoskelett bilden.

Da das Reich der Pilze zu groß ist, als es detailliert beschrieben werden kann, wurde die nachfolgende Abbildung 3 entworfen, die einen orientierenden Einblick gewährleisten soll, der sich verstärkt zu den Schimmelpilzen richtet. Die Struktur des „Baumes“ erfolgt hierarchisch in Abteilung (-mycota), Klasse (-mycetes), Ordnung (-ales), Familie (-aceae) und schließlich in Gattung und Art. Die Grundlage dieser Einteilung basiert auf Pilzelementen, speziell den Organellen (Zygosporangium, Askus, Basidium), welche die Endosporen (durch Meiose entstanden) beinhalten. Es ist wichtig zu wissen, dass *in vitro* gezüchtete Pilzisolat nur dann diese Strukturen ausbilden, wenn bestimmte Kultivierungstechniken berücksichtigt werden. Andererseits liegt nur eine Geschlechtsform vor (B. Neumeister, 2009).

Die rotunterlegten Fenster zeigen die Bereiche, denen zum Schluss die Art des Schimmelpilzes zugeordnet wird, welchen ein höheres Interesse auf Grund der Thematik zugeschrieben wird. Das heißt, unter der Kategorie *Art* sind die Arten von Schimmelpilzen zugeordnet, die später noch verwendet werden. Im obersten Fenster rechts wurde der interessierende Vertreter hervorgehoben, da aus der Klasse der *Zygomyceten* nur ein einziger der Thematik zugeordnet werden kann.



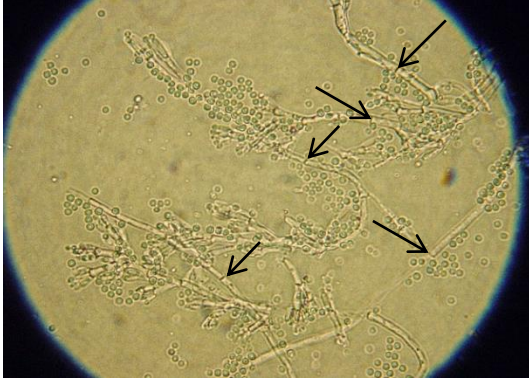


**Abbildung 3: Einteilung der Pilze**

Durch die Abbildung wird ein grober Überblick in das Reich der Pilze gegeben. Wobei die Orientierung hauptsächlich in Richtung der Schimmelpilze geht. Rot unterlegt sind dabei die Wege, an denen zum Schluss unter dem Punkt *Art*, die später noch relevanten Schimmelpilzarten stehen.



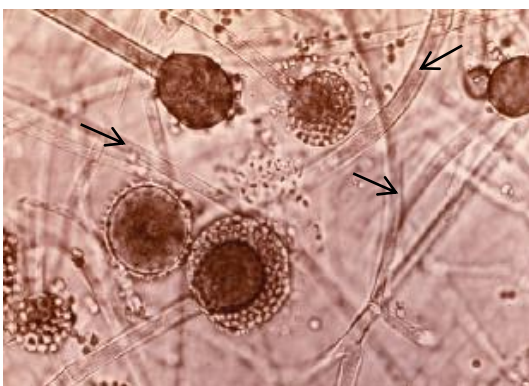
Ein wichtiges Einteilungskriterium ist die Differenzierung von höheren und niederen Pilzen. Mit „höhere Pilze“ sind jene gemeint, deren Hyphen durch Septen unterteilt sind. Ein Beispiel für diese Septen ist in Abbildung 4 deutlich zu erkennen.



**Abbildung 4: septierte Hyphen im mikroskopischen Präparat (URL2, 2012)**

In der Abbildung ist mikroskopisch die Gattung *Penicillium* dargestellt. Dabei handelt es sich um höhere Pilze, bei denen eindeutige Septierungen der Hyphen zu erkennen sind (zusätzlich durch Pfeile gekennzeichnet).

Niedere Pilze hingegen besitzen diese Septen nicht. Zur Veranschaulichung wurde ein mikroskopisches Bild einer Trichome, durch *Mucor* ausgebildet, in Abbildung 5 dargestellt. Die Entstehung von Septen ist in der Regel das Resultat einer Kernteilung. Man differenziert einfache Septen mit zentraler Pore. Diese kommt in den meisten *Ascomyceten* und *Deuteromyceten* vor. Weiter unterscheidet man dolipore Septen, welche sehr komplex sind und zumeist bei *Basidiomyceten* auftreten. In allen *Ascomyceten* und *Deuteromyceten* sind die Multiperforierten Septen vorhanden.



**Abbildung 5: unseptierte Hyphen im mikroskopischen Präparat (Hoc, November 2002)**

Zu sehen ist im mikroskopischen Präparat ein Schimmelpilz der Gattung *Mucor*. Durch die Pfeile wurden sie unseptierten Hyphen gekennzeichnet, die bei diesem niederen Pilz typischerweise auftreten.

## 1.2 Schimmelpilze allgemein

Für den Begriff Schimmelpilz gibt es keine Fachbezeichnung oder genaue Definition über deren Art. Vielmehr liegt eine historische Prägung des Begriffes zu Grunde. Deshalb kann nur beschrieben werden, welche Pilze mit welchen Eigenschaften zu dieser Gruppe zählen. Man ordnet Pilze hinzu, die ein ubiquitäres Wachstum aufweisen. Neben dieser sehr weitfassenden Eigenschaft bilden Schimmelpilze bei der Vermehrung asexuelle Sporen und während des Wachstums toxische Sekundärmetabolite, sogenannte Mykotoxine.

Durch die Zuordnung verschiedener Arten durch physiologische und ökologische Aspekte entsteht anders als gewohnt keine systematische Gruppierung, so dass Arten dieser Gruppe angehören die nicht miteinander verwandt sind. Deshalb unterteilt man weiter in verschiedene Untergruppen. Eine Gruppe bilden die *Eumycota*, die sich weiter unterteilen. Drei dieser Untergruppen werden im weiteren Verlauf der Arbeit immer wieder erwähnt. Gemeint sind die *Deuteromyceten*, *Zygomyceten* und *Ascomyceten*. Letztere bilden den größten Anteil der Schimmelpilze (U. Kück, 2009; Hof & Dörries, 2009; M. Kirchmair, 2001).

### 1.2.1 vegetatives Hyphenwachstum

Es gibt zwei verschiedene Arten vegetativer Organe bei Pilzzellen, die Ernährung und Wachstum sichern. Zum einen kann man sprossende Zellen differenzieren, die vor allem bei Hefen und hefeähnlichen Pilzen beobachtet werden können. Bei der Sprossung entstehen dabei immer eine Tochter- und eine Mutterzelle, die beide identisches Material besitzen.

Die andere Art der vegetativen Organe findet man nahezu ausschließlich bei Schimmelpilzen. Aus einem Pilzelement bilden sich dabei fadenartige (filamentöse) Zellen, die sich beliebig oft verzweigen. Die einzelnen Auswüchse werden als Hyphen bezeichnet. Als Gesamtheit betrachtet ergeben sie ein riesengroßes Geflecht, das Myzel. Wie bereits erwähnt, können die Hyphen septiert oder unseptiert sein (C. Seebacher, 1990). Die Hyphen selbst wachsen von der Spitze heraus. An den Seitenwänden können schließlich zahlreiche Verzweigungen entstehen, die auf gleiche Weise wachsen. Häufig treffen Hyphen aufeinander und fusionieren (Anastomosen), so dass das bereits genannte Myzel ausgebildet wird. Das Myzel bildet dabei den eigentlichen Vegetationskörper der Pilze.

Einzelne Hyphenpilze können zwischen vegetativen Formen wechseln, so dass aus einem hyphenbildenden Pilz eine einzellige „Hefeform“ entsteht. Ursache für einen solchen Dimorphismus sind wechselnde Umweltbedingungen (U. Kück, 2009).

### **1.2.2 Fortpflanzungsorgane**

Wie bereits angedeutet, pflanzen sich Pilze geschlechtlich (generativ) und/oder ungeschlechtlich (vegetativ) fort. Einzellige Fortpflanzungsformen werden als Sporen bezeichnet und können bei höheren Pilzen auch mehrzellig sein. Sie können entweder endogen oder exogen entstehen. Wie unter Punkt 1.1.2 erwähnt, werden Endosporen in „Sporenbehältern“ gebildet. Asexuelle Sporen (durch Mitose hervorgerufen) entstehen dabei im Sporangium und sexuelle Sporen (Produkt von Karyogamie mit anschließender Meiose) im Ascus. Exosporen werden direkt von einer Hyphe abgegrenzt oder aus sporenbildenden Zellen (Phialidin) an den Sporophoren frei. Eine vegetative Vermehrung kann zum einen durch Querteilung von Zellen (Arthrosporen), durch bereits erwähnte Sprossung (Blastosporen) oder aber auch durch freie Zellteilung (Sporangiosporen) erfolgen (C. Seebacher, 1990).

Der größte Anteil der Schimmelpilze ist im Stande, Unmengen an Sporen zu bilden. Diese Versporung wird in Form kleiner Kügelchen auf der Oberfläche des Pilzes sichtbar. Durch dieses Luftmyzel ist der Pilz in der Lage, sich über weite Distanzen zu vermehren. Mikroskopisch kann man zwei deutliche Wachstumsphasen unterscheiden. In der ersten Phase wird ausschließlich vegetatives Myzel ausgebildet. Je nach Pilzart und Wachstumsbedingungen schließt sich die zweite Phase nach wenigen Stunden bis mehreren Tagen nahtlos an, in dem die Sporenträger ausgebildet werden (U. Kück, 2009).

Bei der sexuellen Sporulation lassen sich zwei gegensätzliche Typen klassifizieren. Diese treiben pheromongesteuert aufeinander zu und koppeln aneinander. Später kommt es zur Karyogamie und anschließend zur Meiose. Häufig finden diese Prozesse geschützt statt, z.B. durch ein anfangs ausgebildetes Hyphengeflecht um die Sporen, welches sich während der Meiose zu einer „Hülle“ formt. Anders als bei der asexuellen Vermehrungsform, kann die sexuelle nicht unter Laborbedingungen gezüchtet werden.

### **1.2.3 Differenzierungsmerkmale**

Es gibt verschiedenste Möglichkeiten der Differenzierung von Schimmelpilzen. Primär werden zunächst makroskopische und mikroskopische Merkmale betrachtet. Das heißt,

makroskopisch werden die Wachstumsgeschwindigkeit sowie Farbe (Ober- und Unterseite, Pigmentierung), Geruch und Eigenart (z.B. Exsudatbildung) der Kolonie beurteilt. Anschließend erfolgt die mikroskopische Betrachtung. Hier spielen die Differenzierung der vegetativen und generativen Sporen, die Eigenarten der Hyphen (Septenbildung) und die Farbe der Hyphen eine wichtige Rolle. Durch die mikroskopische Bestimmung kann eine vollständige Abgrenzung bis zur Art hin erfolgen. Wichtig hierfür sind vor allem der Aufbau der Sporulationsorgane sowie die Größe und Form der Sporen (hauptsächlich Konidien) und der „Sitz“ der Sporen (in Ketten, an Sporenträgern usw.). Wichtig ist, dass für eine mikroskopische Beurteilung Pilzkolonien verwendet werden, die gerade mit der Sporulation beginnen.

Weiterhin können physiologische Merkmale betrachtet werden. Hierbei spielen allgemeine Wachstumsbedingungen (z.B. Temperatur, Nährstoffe) eine Rolle (C. Seebacher, 1990).

Als molekularphylogenetische Bestimmungsmerkmale werden hauptsächlich DNA- und Aminosäuresequenzen verwendet. Dabei werden die Gene von Sequenzen differenter Spezies verglichen und nach Ähnlichkeit hin überprüft, so dass bei hoher Ähnlichkeit eine Homologiebeziehung angenommen werden kann. Dafür vergleicht man z.B. ITS-Regionen, die Teile von rRNA-Clustern sind. Sie enthalten Gene für die rRNA und die 5,8S rRNA. Dabei sind die Gene der rRNA hoch konserviert. Die ITS-Region hingegen zeigt eine starke Variabilität, so dass eine Differenzierung von verwandten Arten und Unterarten gewährleistet ist (U. Kück, 2009).

#### **1.2.4 Mykotoxine und Mykosen**

Beim Wachstum der meisten Schimmelpilze werden Sekundärmetabolite gebildet. Sie sind chemisch different und wirken auf unterschiedlichste Art und Weise. Man spricht bei Schimmelpilzen von Mykotoxinen (sonst Pilzgift). Diese Toxine können entweder nach außen abgegeben oder in verschiedenen Pilzzellen angereichert und gespeichert werden. Zurzeit gibt es etwa 200 Mykotoxine die in über 300 Schimmelpilzarten nachgewiesen wurden. Die meisten der Mykotoxinbildner befallen vor allem Lebensmittel. Die Toxine werden hier in den Pilzzellen gespeichert und gelangen schließlich bei der Nahrungsaufnahme in den Organismus. Auch Schimmelpilze an z.B. Wänden können Toxine abgeben. Diese werden vorrangig über die Sporen verbreitet und über den Respirationstrakt aufgenommen.

Einige Mykotoxine besitzen Teratogene, sind immunsuppressiv und können kanzerogen wirken. Ob ein Schimmelpilz Toxine produziert, hängt stark von den äußeren Faktoren ab. Dieser Fakt macht das Abschätzen der Toxizität unmöglich und somit auch zu einem sehr gefährlichen Punkt. Bekannte Größen sind z.B. die Temperatur, Substrat, pH-Wert und Wachstumsphase, in der sich der Schimmelpilz augenblicklich befindet (Hahn, 2009).

Nicht nur die Aufnahme von Toxinen kann für den Menschen gefährlich werden, auch die Ingestion des Pilzes an sich kann zu einer lebensgefährlichen Situation führen. Zur Infektion kommt es durch Anheften des Pilzes z.B. an der Haut. Liegt zudem noch eine Läsion an entsprechender Stelle vor, gelangt der Pilz schnell zum Zielgewebe, um den Organismus zu durchdringen. Man kann zwischen primärer und sekundärer Mykose unterscheiden. Ohne näher darauf einzugehen, besteht der Unterschied beider in der abnormalen Veränderung des Gewebes auf anatomischer und funktioneller Ebene. Dem entsprechend muss die Therapie angepasst werden (C. Seebacher, 1990).

### **1.3 Lebenszyklen ausgewählter Schimmelpilzklassen**

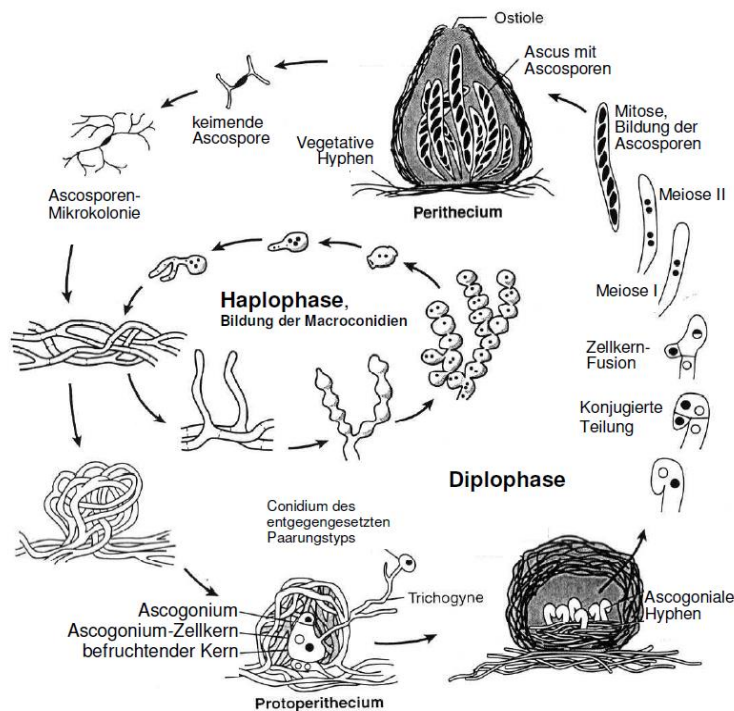
Die Unterschiede in den Lebenszyklen der einzelnen Klassen, ist ein zusätzliches Differenzierungskriterium für die mikroskopische Identifizierung bis zur Art. Kleinste Abweichungen in der Farbe und Größe von verschiedenen Pilzelementen können zur genauen Identifikation beitragen. So kann man z.B. anhand des „Sporenbehälters“ eine Aussage zur Klasse des Schimmelpilzes machen.

#### **1.3.1 Lebenszyklus der *Ascomyceten***

Der am besten beschriebene Lebenszyklus der *Ascomyceten*, ist der des Modelorganismus *Neurospora crassa*. Da sich der Reproduktionszyklus aller *Ascomyceten* ähnelt, erfolgen die Erläuterungen an Hand dem von *N. crassa* (siehe Abb. 6).

Wie bereits angedeutet (Punkt 1.2.2), sind Schimmelpilze in der Lage, sich heterothallisch fortzupflanzen. Der ungeschlechtliche Vermehrungsweg (dominiert bei normalen Wachstumsbedingungen) erfolgt bei den *Ascomyceten* über die Abgrenzung differenzierter Hyphen (coenocytisch) zu Makrokonidien. Diese werden nach vollständiger Reifung, über das Luftmycel verbreitet und „keimen“ bei günstigen Bedingungen aus (Heise).

Der komplexere Teil der Vermehrung liegt in der geschlechtlichen Fortpflanzung. Vor Eintritt in die Diplophase (siehe Abb. 6) müssen Mycelien unterschiedlichen Paarungstyps vorliegen und diese durch Makrokonidien eines anderen Paarungstyps „angesteuert“ werden. Dieser Vorgang erfolgt pheromongesteuert.



**Abbildung 6: Lebenszyklus der *Neurospora crassa* (Aign, 2002)**

In der Haplophase (asexuelle Phase) werden einige Hyphen abgeschnürt, so dass es zur Bildung von Makrokonidien kommt. Diese können wieder zu neuem Myzel heranwachsen. Bei der sexuellen Vermehrung treiben zwei getrennt geschlechtliche Pilzelemente pheromongesteuert aufeinander und verbinden sich. Nach der Karyogamie schließt die Meiose an. Zum Schluss entsteht ein Ascokarp, in dem die Ascosporen enthalten sind.

Den weiblichen Teil bilden die Hyphen, die nach dem Kontakt mit einer Konidie des anderen Paarungstyps ein „Knäul“, das Protoperithecium, ausbilden. Der Kontakt zur Konidie wird mit Hilfe einer Trichogyne hergestellt. Danach wandert der Zellkern der Konidie in das „Keimblatt“. Hier kommt es zu mehreren mitotischen Teilungen (synchron). Nach der Verschmelzung der Zellkerne der differenten Paarungstypen, kommt es zur Ausbildung von Zygoten. Sie befinden sich in den Asci. In diesem finden die anschließenden meiotischen Teilungen (zwei) und eine endgültige mitotische Teilung statt. Dabei entstehen in jedem Ascus acht Ascosporen. Von ihnen können 200-400 im Perithecium enthalten sein (Aign, 2002; Heise; Munk, 2008; N. A. Campbell, 2009).



### **1.3.2 Lebenszyklus der *Zygomyceten***

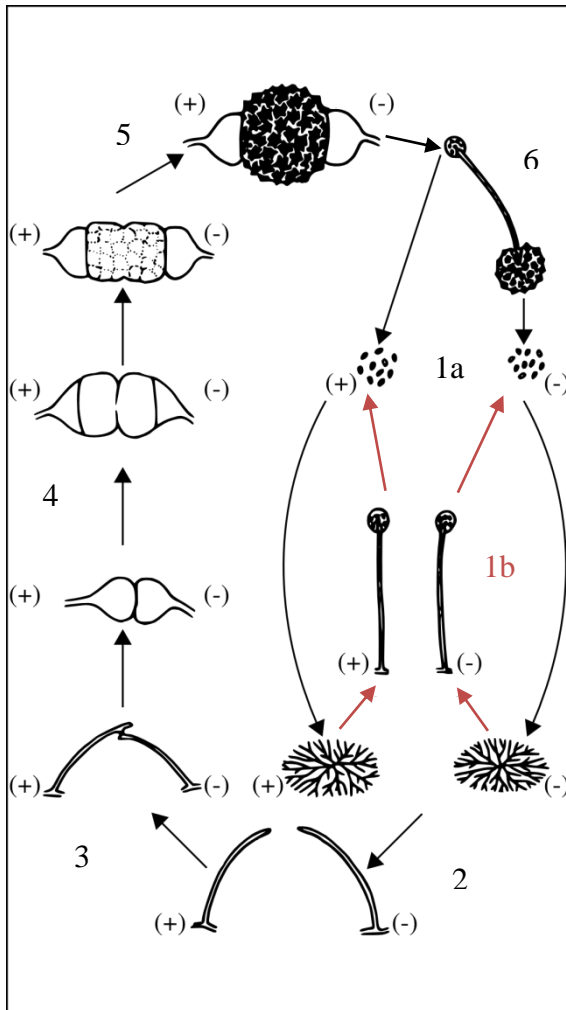
Im vegetativen Entwicklungszyklus (Abb. 7 – 1b) der *Zygomyceten* verbreiten sich die Sporen der Sporangien und keimen bei günstigen Bedingungen zum Myzel aus. Wie bei den meisten Schimmelpilzen überwiegt diese Art der Fortpflanzung bei günstigen Bedingungen.

Bei der geschlechtlichen Vermehrung (Abb. 7 – 1a-6) kommt es zur Verschmelzung von Myzelien unterschiedlichen Paarungstyps. Diese bilden eine spezielle Hyphenstruktur, die als Gametangien bezeichnet wird. Hier befinden sich haploide Zellkerne. Durch die Plasmogamie bildet sich das Zygosporangium. Dieses bildet eine dickwandige und widerstandsfähige Hülle, die es monatelang vor Umwelteinflüssen schützt. Bestehen günstige Umweltbedingungen, erfolgt die Karyogamie mit anschließender Meiose. Aus dem Zygosporangium wächst ein Sporangium, welches genetisch neukombinierte Sporen an die Umgebung frei gibt (D. H. O'Day, 1981; N. A. Campbell, 2009; M. Kirchmair, 2001).

### **1.3.3 Lebenszyklus der *Deuteromyceten***

Auf den vorangegangenen Seiten wurden die Lebenszyklen von Schimmelpilzen beschrieben, bei denen neben der asexuellen Vermehrungsform noch ein sexuelles Stadium bekannt ist. Bei Pilzen, die unter den *Deuteromyceten* zusammengefasst sind, besteht diese Form der Vermehrung nicht oder ist bis heute nicht bekannt. Da eine sehr hohe Anzahl dieser Pilze existiert, wurden mehrere Gruppen in dieser Klasse angelegt, um alle Pilze nach markanten Merkmalen zu ordnen. Deshalb sind die *Deuteromyceten* eine Art Formklasse. Ein Einteilungskriterium ist z.B. die vegetative Vermehrung durch Conidien oder Vermehrung durch Hyphenstadien (Hyphomyceten).

In dieser Gruppe sind eine Vielzahl von Pilzen, enthalten die sich durch mikroskopische und makroskopische Bestimmungsmerkmale identifizieren lassen. Die Pilze die sich durch morphologische Strukturen nicht taxonomisch ordnen lassen, können molekularbiologisch identifiziert werden (Fuchs, 2007; P. H. Raven, 2006) .



**Abbildung 7: Lebenszyklus von *Mucor mucedo* (D. H. O'Day, 1981)**

Der Punkt 1a zeigt Sporen, die anschließend bei günstigen Bedingungen auskeimen und zu Myzel heranwachsen. 1b beschreibt den ungeschlechtlichen Fortpflanzungsweg. Dabei bilden sich aus dem Myzel Sporangien, die genetisch identische Sporen ausbilden. Ab Punkt 2 beginnt der geschlechtliche Vermehrungsweg. Dazu treffen Myzelien unterschiedlichen Paarungstyps aufeinander (3), die sich anschließend zu einer Gametangie zusammenschließen. Nach der Plasmogamie (4) bildet sich ein Zygosporangium aus. Dieses ist vor Umwelteinflüssen durch eine dickwandige Hülle geschützt. Bei günstigen Bedingungen kommt es zur Karyogamie mit anschließender Meiose (5). Danach wächst aus dem Zygosporangium ein Sporangium mit genetisch neukombinierten Sporen (6).

#### 1.4 Metabolismen der Schimmelpilze

Grundsätzlich lässt sich der Stoffumsatz der Schimmelpilze, wie in jeder Zelle, in drei Hauptabschnitte einteilen. Im Katabolismus werden die aufgenommenen Nährstoffe in Bruchstücke zerlegt und zur Energiegewinnung häufig vollständig oxidiert. In diesen Schritten sind bei der Umsetzung verschiedene Substanzen beteiligt. Dieser Abschnitt wird als Amphibolismus bezeichnet. Diese beiden Stoffwechselprozesse gehen

ineinander über. Aus den entstehenden Intermediaten werden auch Aminosäuren, Nukleotide und andere synthetisiert, die zum Schluss zu Proteinen, Nukleinsäuren Zellwandbestandteilen und anderen aufgebaut werden. Diesen Prozess fasst man als Anabolismus zusammen (Fuchs, 2007).

Die ersten beiden Stoffwechsel werden auch als Primärstoffwechsel zusammengefasst. Dieser dient dem Überleben und Wachstum. Für die Schimmelpilze sind die wichtigsten Primärmetabolismen die Glykolyse, der Citrat-Zyklus und der Glyoxylat-Zyklus. Der darauffolgende Abschnitt wird auch als Sekundärmetabolismus bezeichnet und schießt Prozesse ein, die nicht essentiell für das Überleben des Schimmelpilzes sind. Anderes als bei Primärmetaboliten werden Sekundärmetabolite meist nur bei idealen Wachstumsbedingungen gebildet. Zu den wichtigsten pilzlichen Sekundärmetaboliten zählen die Polyketide (u.a. Mykotoxine), Fettsäurederivate, nicht-ribosomale Peptide (z.B. Penicillin), Isoprenoide und die Alkaloide (häufig Giftstoffe) (U. Kück, 2009; Fuchs, 2007; Fromme, 2010).

## **2 Problemstellung**

Bei der Lagerung von Textilien, speziell Leder, ist es wichtig, bestimmte Rahmenbedingungen einzuhalten, um die Qualität nicht zu gefährden. Durch kühle, dunkle und trockene Aufbewahrung werden unter anderem optimale Lagerbedingungen geschaffen. Auch Imprägnierungen tragen zur Verbesserung der Haltbarkeit bei.

Trotz aller Vorkehrungen, optimale Bedingungen zu schaffen, kann es dazu kommen, dass Leder durch den Befall von z.B. Schimmelpilzen in Mitleidenschaft gezogen wird und so ungewollt zur Minimierung der Lagerbestände beiträgt.

Durch Stoffe in der Imprägnierung kommt es zuweilen zur morphologischen Veränderung der Schimmel, was sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch ersichtlich ist. Durch diese Veränderungen sind Teile der Schimmelpilze nicht mehr in der Lage, auf den entsprechenden Kulturmedien zu wachsen. Ein weiterer Teil lässt sich kultivieren, jedoch ohne die vorher gezeigte morphologische Veränderung. Der Teil der anzüchtbar ist, kann zurzeit nur schwer durch fachkundiges Personal durch mikroskopische Analyse identifiziert werden, da spezielle Bestimmungsschlüssel für die Identifikation von Schimmelpilzarten auf Naturstoffen wie Leder nicht oder nur bedingt vorhanden sind. So stoßen die konventionellen Methoden schnell an ihre Grenzen.

Deshalb soll zu nächst herausgefunden werden welche Schimmelpilzarten auf Leder wachsen und wie sie makros- und mikroskopisch identifiziert werden können. Zudem muss festgelegt werden, nach welchen Gesichtspunkten eine mikroskopische Begutachtung zur Bestimmung einer Schimmelpilzart eine eindeutige Aussage liefert. Das heißt, es sollten „Schlüsselkomponenten“ im Aufbau und in den verschiedenen Lebenszyklen des Schimmelpilzes gefunden werden, die eine eindeutige Identifizierung ermöglichen.

Im weiteren Verlauf wäre es sinnvoll, die Stoffwechselwege auf die Verwendung von Teilprodukten des Imprägnierstoffes hin zu betrachten. So könnte unter Umständen herausgefunden werden, wie sich der Schimmelpilz mit seinem Stoffwechsel auf die veränderten Lebensbedingungen auf dem Leder anpasst. Dadurch können letztendlich weitere nötige Maßnahmen eingeleitet werden.

### **3 Material**

Da im weiteren Verlauf der Arbeit die verschiedenen Nährböden der differenten Schimmelpilze erwähnt werden, wurde dieser Punkt genutzt, um die Kulturmedien aufzuzählen, die für ausgewählte Schimmelpilze am häufigsten in der Praxis verwendet werden, ohne dabei näher auf die Zusammensetzung einzugehen. Hinter der Klasse befindet sich in Klammern die Gattung des/ der ausgewählten Schimmel.

Weiterhin werden die Medien aufgeführt die für die Gestaltung und Präsentation der Ergebnisse verwendet wurden.

#### **3.1 Zygomyceten (*Mucor*)**

Sabouraud-Glukose-Agar ohne Zusatz von Cycloheximid (Rüschendorf, 2007)

Kultivierung bei 24°C und 37°C (Erstellung von 2 Kulturen)

Da eine Bebrütung bei 37°C für humanpathogene Pilze bestimmt ist, muss im Fall der Besiedelung von Leder und Textilien entschieden werden, ob diese Art von Kolonisierung auf den erwähnten Materialien begründet ist.

#### **3.2 Ascomyceten (*Trichoderma*)**

Malzextrakt-Agar (Merck Millipore, 2014; Schmelz, 2009)

Kultivierung bei 37°C

Durch den niedrigen pH-Wert (5,5) wird das Bakterienwachstum unterdrückt. Zusätzlich besitzt dieses Vollmedium einen hohen Feuchtigkeitsgrad.

SNA-Agar (Sifin, 2008)

Kultivierung bei 20°C

Die Bebrütungsdauer beträgt ein bis zwei Tage. Dieser Agar ist für *Trichoderma* geeignet. Der pH-Wert des Nährbodens liegt bei 5,5.

#### **3.3 Deuteromyceten (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aureobasidium*, *Epicoccum*, *Fusarium*)**

Malzextrakt-Agar (Merck Millipore, 2014) (Schmelz, 2009)

Kultivierung bei 37°C

Mais-Agar (H. Kreisel, 1987)

Kultivierung bei 26°C

Dieser Agar ist für die Sporulation der meisten *fungi imperfecti* geeignet.

Sabouraud-Glukose-Agar (Rüschendorf, 2007)

Kultivierung bei 37°C (in wenigen Fällen 28°C)

Die Bebrütungsdauer ist hier stark vom Probenmaterial abhängig.

Czapek's-Agar (Himedia, 2011)

Kultivierung bei 37°C

Dieser Agar wird häufig für die Gattungen *Aspergillus* und *Penicillium* verwendet.

### **3.4 Universalnährmedien**

Reis-Agar (Merck Millipore, 2013; H.-J. Tietz, 1999)

Kultivierung bei 20°C – 25°C bei aeroben Bedingungen 3-4 Tage

Reis-Agar ist geeignet für den Lebendnachweis. Im Nährboden selbst befindet sich Reisextrakt als Nährstoffquelle. Durch herbeigeführten Stress beim Schimmelpilz (Sauerstoffmangel) kommt es zur Versporung. Durch die spezifischen morphologischen Varianten kann eine Identifikation stattfinden.

### **3.5 Medien zur Webpräsentation**

HTML (Hypertext Markup Language) 5

CSS (Cascading Style Sheets) 3

PHP (Hypertext Preprocessor)

## **4 Methoden**

Der Punkt beschreibt die praxisüblichen Methoden. Auf Grund des hochinfektiösen Materials wird grundsätzlich unter der Sterilbank gearbeitet. Im zweiten Teil werden die Klassen der *Zygomyceten*, *Ascomyceten* und *Deuteromyceten* auf die mikroskopischen Differenzierungsmerkmale hin beschrieben. Zum Schluss folgt die methodische Beschreibung der Webpräsentation mit der Darstellung der erarbeiteten Ergebnisse.

### **4.1 Herstellung eines mikroskopischen Präparats**

Nach der makroskopischen Beurteilung, die in dieser Projektarbeit nicht betrachtet wird, erfolgt die Herstellung des mikroskopischen Präparats. In der Regel werden dazu zwei differente Methoden der nachfolgend erläuterten durchgeführt. Die Reihenfolge ist dabei gleich der Häufigkeit, mit der ein Präparat durch diese Methode in der Praxis erstellt wird. Bei Schimmelpilzen erfolgt die Probenahme an der peripheren Randzone.

#### **4.1.1 Zupf-/Abdruckpräparat mit NaCl/Lactophenolblau (Tuschepräparation)**

Von der mit Schimmel befallenen Stelle wird mit einer sterilen Pinzette eine zureichende Menge entnommen und ein für den Pilz typisches Nährmedium (siehe Punkt 3) beimpft. Nach der Bebrütung der Platten wird, wie in Abb. 8 (B1) dargestellt, ein Klebestreifen (Abdruckpräparat) auf die Kolonie gedrückt, welcher anschließend auf einen Objektträger mit Lactophenolblau oder NaCl aufgebracht wird. Durch das Lactophenolblau werden die Pilzelemente dunkelblau und mit NaCl nativ dargestellt. Beim Zupfpräparat (Abb. 8 (B2)) wird aus der Randregion die Probe mit einer Präpariernadel entnommen und in einen Tropfen Lactophenolblau/NaCl, der sich auf einem Objektträger befindet, eingerührt. Darauf wird anschließend ein Deckglas gelegt. Beide Präparate können entweder bei schwacher Vergrößerung (100er Objektiv) oder mittlerer Vergrößerung (400-600er Objektiv) mikroskopisch beurteilt werden.

#### **4.1.2 Deckglaskultur I (Agarblockmethode)**

Aus einem für die Schimmelpilzgattung spezifischem Agar wird ein ca. ein mal zwei Zentimeter großer Block via Skalpell zugeschnitten und entnommen. Dieser wird anschließend vorbereitend für die Probe, auf einen Objektträger positioniert. Aus einer kontaminierten Probe wird mit einer sterilen Impflohe eine hinreichende Menge des Schimmelpilzes entnommen. Nachfolgend wird, möglichst senkrecht, ca. bis zur Hälfte in den vorbereiteten Agarblock eingestochen und die Öse anschließend auf dem selben Weg wieder heraus gezogen (Abb. 8 (C)). Auf den beimpften Agarblock wird

letztendlich ein steriles Deckglas gelegt. Jetzt muss die gesamte „Konstruktion“ (Objektträger, Agarblock, Deckglas) in einer Feuchtkammer bei spezifischer Temperatur (siehe unter Punkt 3) bebrütet werden. Nach einem Tag Kultivierungszeit entnimmt man das mit Pilzmyzel bewachsene Deckglas und legt es auf einen, mit einem Tropfen Lactophenolblau versehenen, Objektträger. Im Anschluss erfolgt die mikroskopische Identifikation.

#### **4.1.3 Deckglaskultur II (Agarausschnitt)**

In ein spezifisches Nährmedium wird ein ca. vier mal zwei Zentimeter großes Viereck entnommen und verworfen. Anschließend wird aus drei unterschiedlichen Stellen der Probe Material entnommen und je Entnahme einmal an eine Seite der Aussparung im Agar eingestochen (Abb. 8 (D)). Nach dem Auflegen von einem großen sterilen Deckglas, schließt sich eine Inkubationszeit von einem Tag bei spezifischer Temperatur an. Danach folgt, wie in 4.1.2, die mikroskopische Beurteilung nach Anfärben mit Lactophenolblau.

Bei beiden Deckglaskulturen ist, wie aus der Beschreibung hervorgeht, eine Schnellpräparation nicht möglich. Ebenso dürfen damit Stämme mit Verdacht auf *Histoplasma*, *Blastomyces* oder *Coccidioides immitis* nicht durch diese Methoden identifiziert werden.

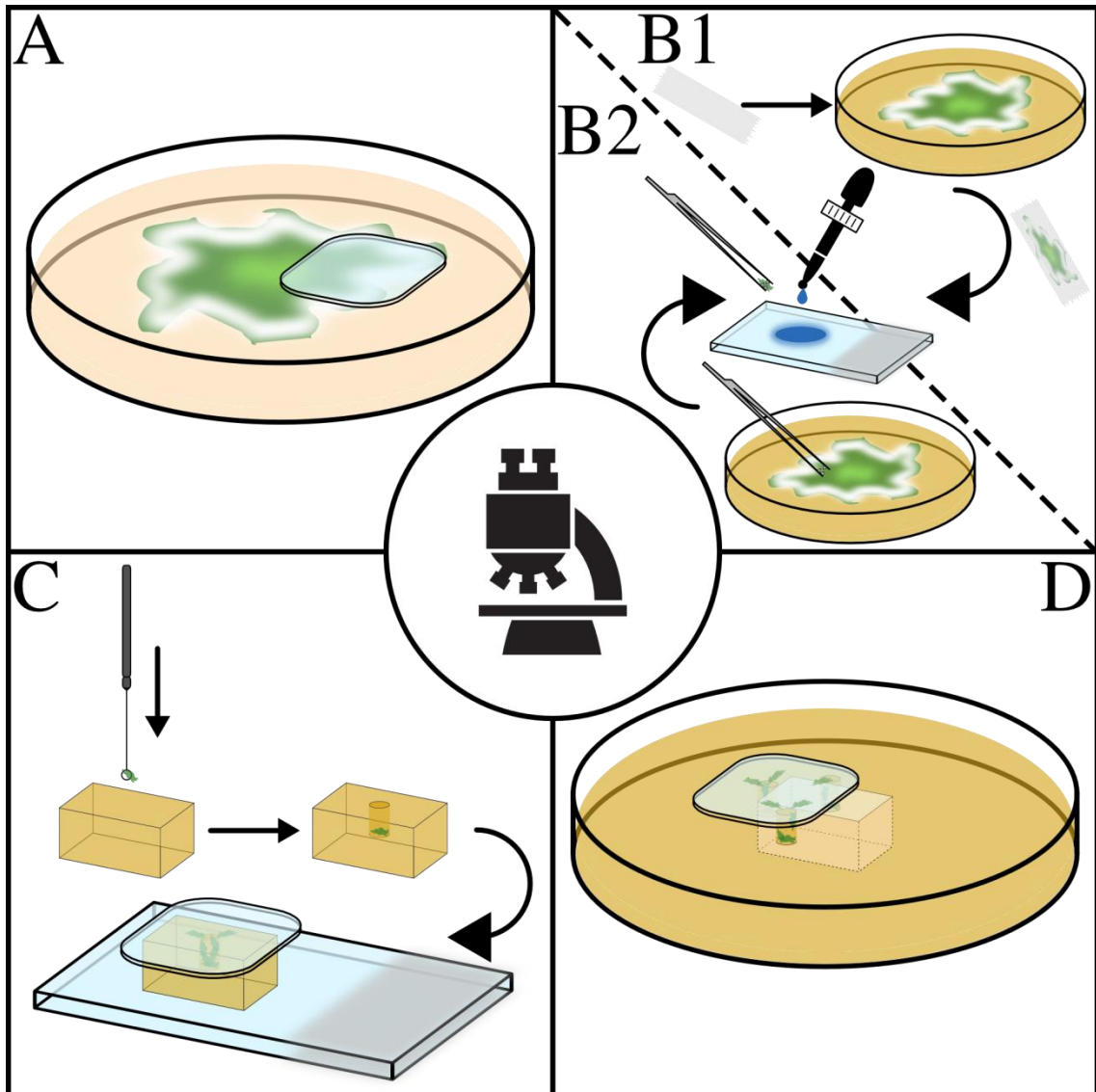
Durch Fixierung mit Nagelklarlack kann die Präparation dauerhaft haltbar gemacht werden.

#### **4.1.4 Reis-Agar (Lebenspräparat)**

Reis-Agar ist nicht nur ein Minimalnährmedium für Hefen wie *Candida albicans*, sondern kann auch für die Differenzierung pathogener Schimmelpilze genutzt werden. Weil er wenig Kohlhhydrate enthält und sich durch den Sauerstoffmangel (durch Deckglas provoziert) die Kolonie unter Stress befindet, werden vom betrachteten Pilz Sporen gebildet, die für eine eindeutige Identifizierung wertvolle Details liefern.

Um eine solche Kultur herzustellen, wird aus einer mit Schimmel befallenen Stelle die Probe mit z.B. einer Präpariernadel entnommen und in den Reis-Agar eingestochen. Anschließend wird der Nährboden, wie unter Punkt 3 beschrieben, bebrütet. Nach der Bebrütungszeit erfolgt nach Auflegen eines sterilen Deckglases, die mikroskopische Auswertung (Abb. 8 (A)).



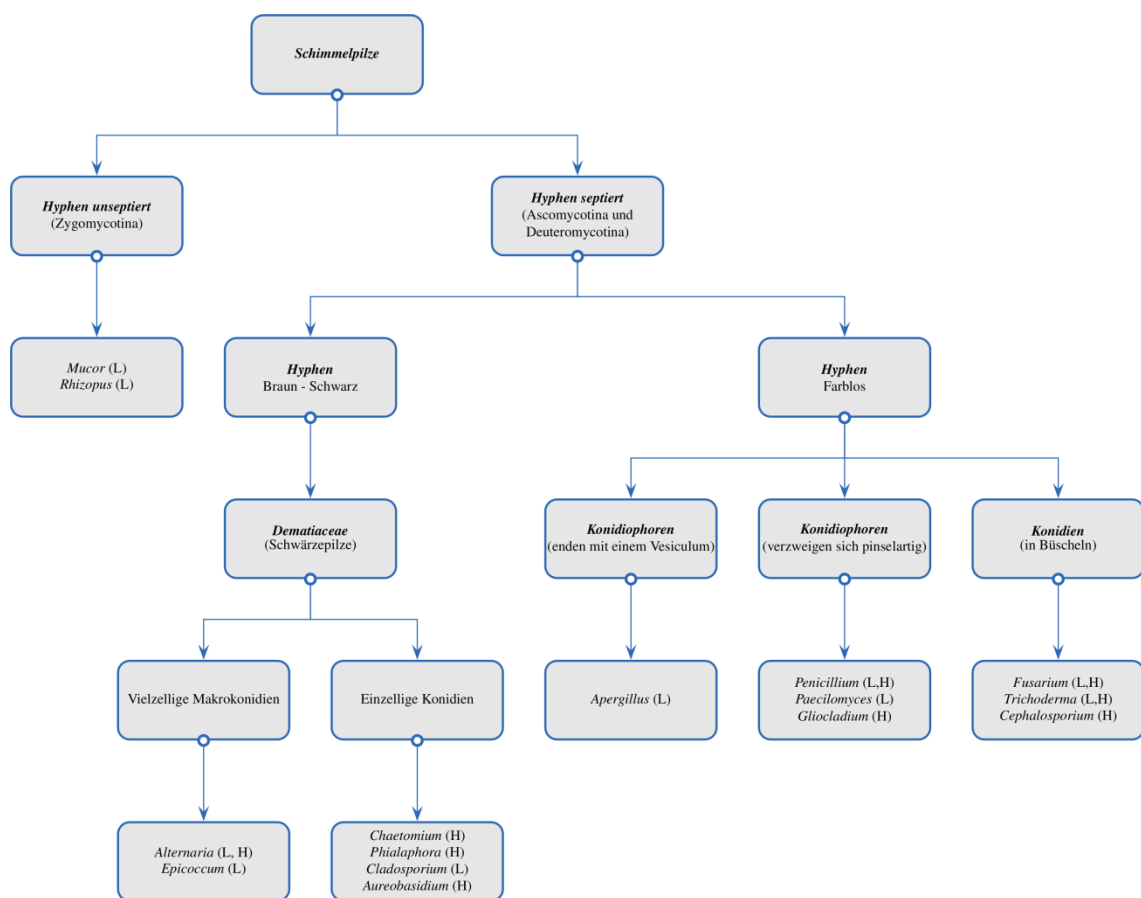


**Abbildung 8: Methoden der Schimmelpilzdiagnostik**

A zeigt die Lebenspräparation durch Reis-Agar. Nach der Bebrütung wird auf die Kolonie ein steriles Deckglas aufgelegt und steht dann zur mikroskopischen Differenzierung zur Verfügung. B1 beschreibt die Tuschepräparation mit vorangegangenen Tesafilmabdruck der Schimmelpilzkolonie. In B2 ist ebenfalls die Tuschepräparation dargestellt, hier jedoch nach Zupfen der Kolonie. Das Anfärben der Pilzelemente wird mit Lactophenolblau realisiert; mit NaCl erhält man ein natives Bild. Die Agarblockmethode ist in C skizziert. Dabei wird der Schimmelpilz mit einer Impföse in einen vorher angefertigten Agarblock gestochen, mit einem sterilen Deckglas versehen und anschließend in einer Feuchtenkammer inkubiert. Final erfolgt die mikroskopische Identifizierung. Unter D ist ebenfalls eine Deckglasmethode abgebildet. Anders als in C wird der Agarblock aus dem Nährboden gehoben und anschließend an drei der vier Wände, wie unter C, die Probe aufgebracht. Zum Schluss wird ein steriles Deckglas aufgebracht und das Nährmedium bebrütet.

## 4.2 mikroskopische Differenzierung

Betrachtet man die angezüchteten Schimmelpilze mikroskopisch, kann man die Differenzierungsmerkmale zwischen den Gattungen gut erkennen. Schwerer ist es jedoch, will man die Art differenzieren. Hierzu benötigt man spezielle Bestimmungsschlüssel, die bei der Identifizierung helfen. Unter den nachfolgenden Punkten werden zunächst die mikroskopischen Unterscheidungsmerkmale zwischen den Gattungen besprochen und schemenhaft abgebildet. Hierzu ist in folgender Abbildung 9 zunächst eine grobe Einteilung der Schimmelpilze rein auf mikroskopischer Ebene abgebildet.



**Abbildung 9: Mikroskopische Einteilung der Schimmelpilze**

Ausgehend vom Überbegriff „Schimmelpilze“ verzweigt sich die Abbildung nach mikroskopischen Gesichtspunkten. Angefangen mit der Einteilung in niedere (unseptierte) und höhere (septierte) Schimmel, über die Darstellung der Farbe der Hyphen im mikroskopischen Bild, bis hin zur Form ausgewählter Pilzelemente.

(L) für vorkommende Gattungen auf Leder (H) für vorkommende Gattungen auf Holz.

### **4.2.1 Zygomyceten**

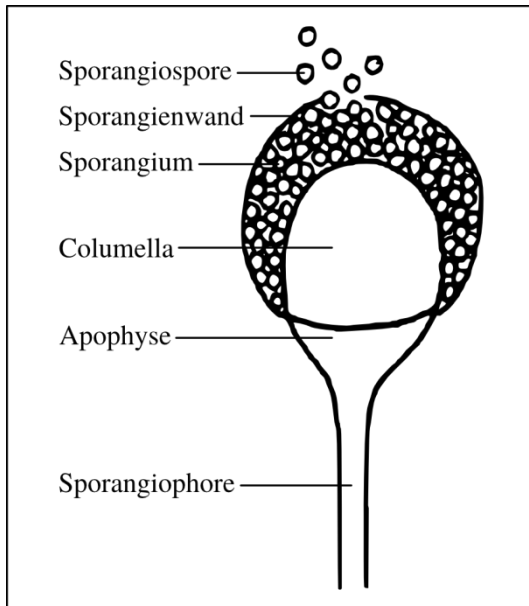
*Zygomyceten* zählen zu den niederen Schimmelpilzen, was heißt, sie besitzen unseptierte Hyphen. Sie sind, wie die meisten Schimmelpilze, ubiquitär vorkommend und werden exogen, durch das Einatmen der Sporen übertragen. Dadurch können Krankheiten wie Zygomykosen oder Mukormykosen, durch den Befall des Lungengewebes auftreten. Einer der wichtigsten Vertreter zählt der nachfolgenden Gattung *Mucor* an (Rüschendorf, 2007; Hof & Dörries, 2009).

#### **4.2.1.1 *Mucor***

Zu der Gattung *Mucor* zählen 49 Arten, wobei deren Klassifizierung sehr schwierig ist. Nach der Sporulation verfärbt sich die Kolonie grau bis schwarz [U. Kück, 2009]. Mikroskopisch werden unter anderem Form und Größe der Sporen und des Sporangiums sowie die Länge der Sporangiphore differenziert. Weiter unterscheidet man das Vorhandensein oder Fehlen von Apophyse, so wie die Form und Größe der Columella. In den folgenden beiden Abbildungen (10 und 11) sind zum Einen die mikroskopisch zu beurteilenden Elemente dargestellt und zum Anderen werden die verschiedenen Formen der Columella illustriert [Rüschendorf, 2007].

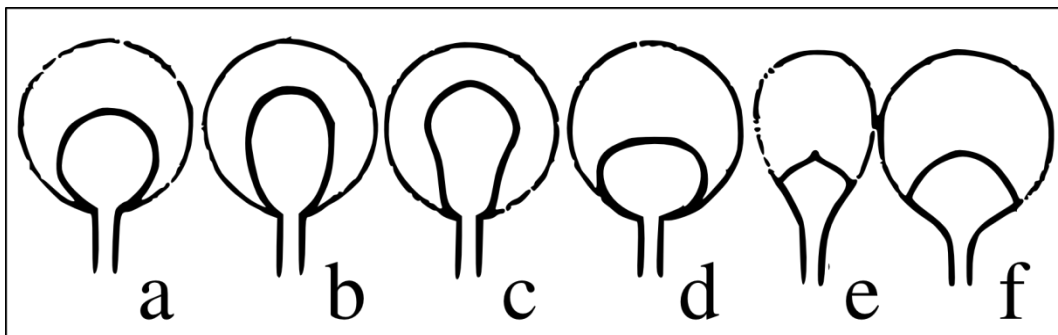
Neben der Form der Columella kann man auch die Sporangienentwicklung bestimmen (Abb. 12 A), die einen Einblick in den Reifungsprozess gibt. Dadurch lässt sich die vegetative Vermehrung beschreiben. In der Gesamtheit erscheint die Gattung mikroskopisch gleich (Abb. 12 B). Betrachtet man differente Arten dieser Gattung, finden sich typische Unterschiede, die eine Identifizierung ermöglichen.

Ein Vertreter der Gattung, der eine zentrale Rolle in der Projektarbeit spielt, ist *Mucor mucedo*. Dieser Vertreter ist von anderen Gattungen morphologisch sehr schwer abzugrenzen. Als mikroskopisches Beispiel wurde *Mucor sp.* in Lactophenolblau-Färbung in Abb. 13 dargestellt. Typisch für diese Präparation ist die hellblau-Färbung der Hyphen. Im Bild erkennt man die Columella (hellbraun durchscheinend) und das umgebende Sporangium.



**Abbildung 10: Ungeschlechtlicher "Vermehrungsapparat" – *Mucor* [Rüschendorf, 2007]**

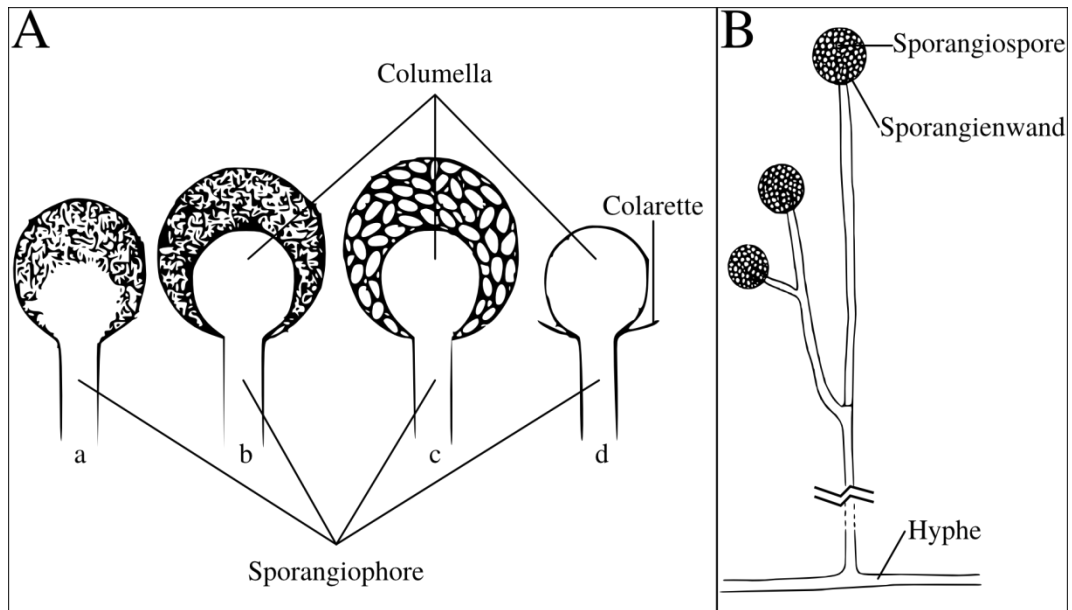
Zu sehen ist ein Ausschnitt eines mikroskopischen Bilds von *Zygomyceten*. Der Aufbau dieses Pilzelements ist bei allen *Zygomyceten* ähnlich und trägt bei einer mikroskopischen Identifikation nicht nur zur Bestimmung der Gattung bei. Das Sporangium beinhaltet die Sporangiosporen, die hier für die ungeschlechtliche Vermehrung reifen. Sie werden durch die Sporangienwand vorerst daran gehindert, abgestoßen zu werden. Auf der Sporangioaphore befindet sich am Ende einer Hyphe das gesamte Sporangium.



**Abbildung 11: Formen der Columella [nach (M. Kirchmair, 2001)]**

In der Abbildung sind verschiedene Formen der Columella aufgezeigt, die unter den *Zygomyceten* auftreten können.

a: kugelig, b: oval, c: birnenförmig, d: halbkugelig, e: halbkugelig mit Fortsatz und Apophyse, f: halbkugelig mit Apophyse



**Abbildung 12: Mikroskopische Differenzierung von *Mucor***

A zeigt die Sporangienentwicklung speziell bei *Mucor*. Dabei wird der Reifeprozess der Sporen innerhalb des Sporangiums angesprochen. a-c Herausbildung der Columella und Reifung der Sporen, d Columella nach Brechen der Sporangienwand und Freigabe der Sporen (M. Kirchmair, 2001). B illustriert eine schematische mikroskopische Abbildung von *Mucor*. Der Grundaufbau dieser Gattung ist immer gleich. Es treten geringe Abweichungen zwischen den Arten auf, die eine Identifikation ermöglichen [nach [Rüschendorf, 2007]].



**Abbildung 13: Mikroskopisches Bild - *Mucor* sp. (García-Romero MT, 2011)**

Dargestellt ist ein mikroskopisches Bild von *Mucor* sp., welches als Beispiel dienen soll. Zentral liegen drei Sporangien, die von ein und demselben Sporangienträger ausgehen. Hellblau sind die Hyphen angefärbt. Da es sich um einen humanpathogenen Befund handelt, befindet sich im Hintergrund evtl. bakterielle Flora, die nicht aktiv mit dem Schimmelpilz zu tun hat.

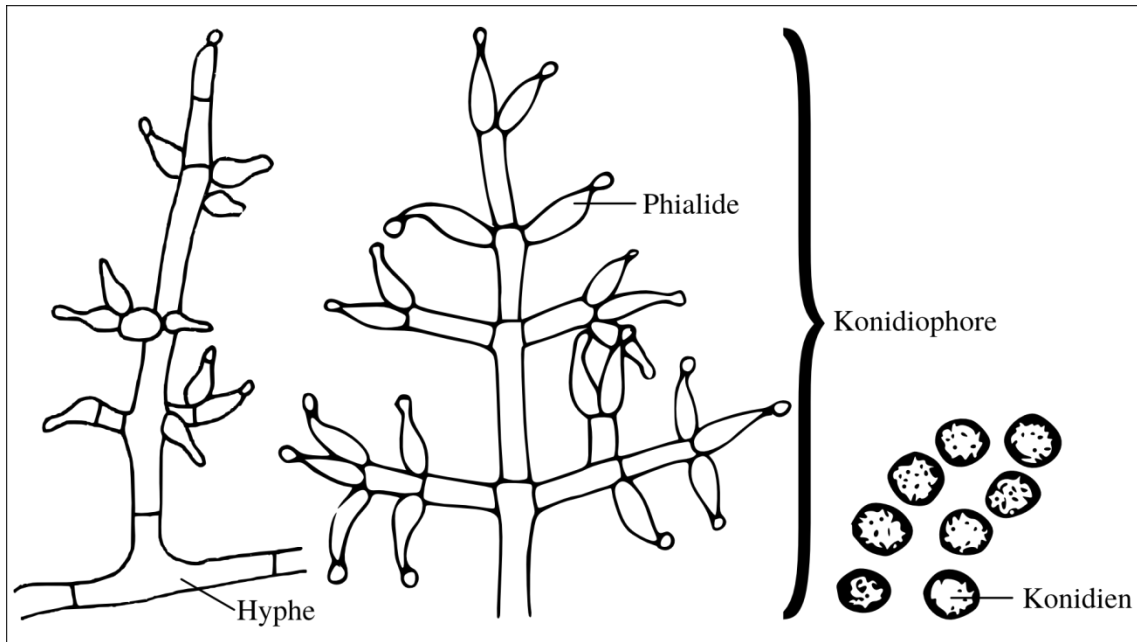
#### **4.2.2 *Ascomyceten***

Anders als die *Zygomyceten* zählen die *Ascomyceten* zu den höheren Schimmelpilzen. Das heißt, ihre Hyphen sind septiert. Sie leben vorwiegend terrestrisch und besiedeln hauptsächlich Pflanzen, mit denen sie eine saprophytische oder parasitäre Lebensweise eingehen (Leuchtmann, 2013). Die Gruppe der *Ascomyceten* umfasst geringfügig weniger als die Hälfte aller bekannten Pilze. Die Namensgebung erfolgt durch den Fruchtkörper (Ascus).

##### **4.2.2.1 *Trichoderma***

*Trichoderma* bildet den Antagonisten zu differenten parasitischen Pilzen und kommt vorrangig auf Holz vor (N. Ranasingh, 2006; Spektrum, 1999). Es besitzt die Eigenschaft, Cellulose zu zersetzen, weshalb es in der biotechnologischen Industrie zu Recyclingzwecken und Gewinnung von Cellulase verwendet wird.

Mikroskopisch zeigt sich ein filigranes Geflecht aus Hyphen, die im Tuschepräparat blau dargestellt werden. Am Ende der Konidiophore befinden sich flaschenförmige Phialidien, an denen sich mehrere runde bis ovale Sporen befinden. Die Konidien sind meistens grün. In seltenen Fällen erscheinen sie hyalin mit einer rauen Oberfläche. In der nachfolgenden Abbildung 14 wird die Gattung *Trichoderma* schematisch dargestellt und wichtige Pilzelemente beschrieben.



**Abbildung 14: Mikroskopische Differenzierung von *Trichoderma***

In der Abbildung ist schematisch das mikroskopische Bild der Gattung *Trichoderma* illustriert. Die Konidien sind rund bis oval. Bevor sie abgestoßen werden, befinden sich mehrere von ihnen an den Enden der flaschenförmigen Phialidien.

#### 4.2.3 *Deuteromyceten*

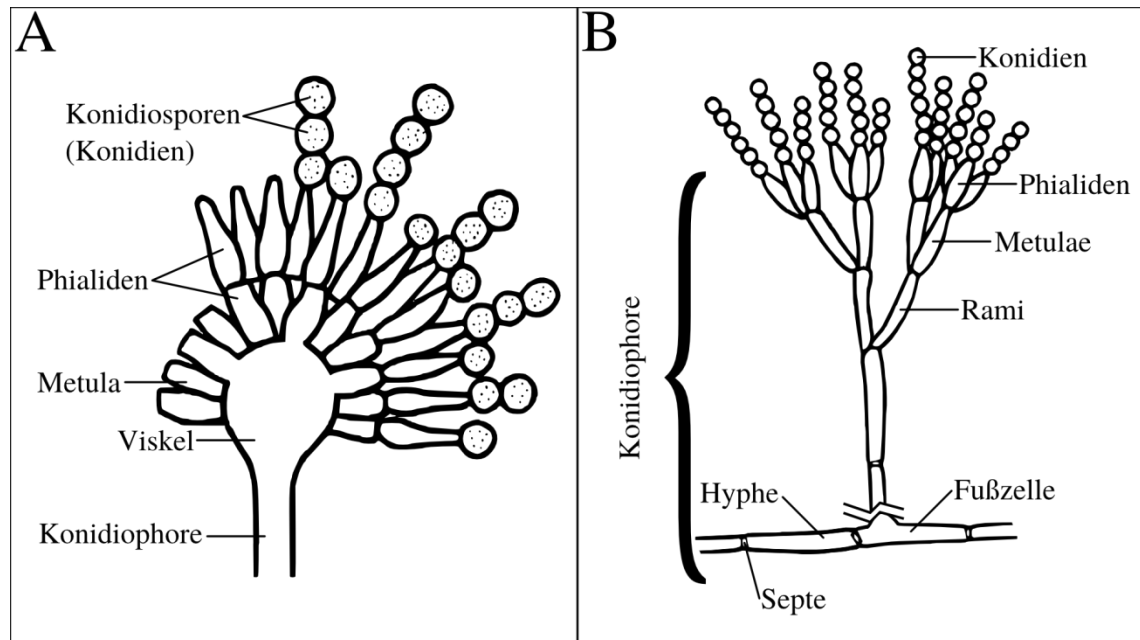
Die *Deuteromyceten* werden auch als *Fungi imperfecti* (etwa 10 000 Arten bekannt) bezeichnet, da man von Schimmelpilzen, die dieser Klasse angehören, nur die sexuelle Form (telomorph) kennt. Grund hierfür könnte sein, dass keine asexuelle Form besteht oder diese noch nicht „gefunden“ wurde [Hahn, 2009]. Existieren später perfekte Formen findet man diese häufig unter anderem Namen. Man kann diese Klasse allerdings nicht als systematische Bezeichnung sehen, da hier Schimmel aus differenten phylogenetischen Gruppen beschrieben sind (M. Kirchmair, 2001; U. Kück, 2009).

##### 4.2.3.1 *Aspergillus*

Zurzeit sind etwa 200 Arten von *Aspergillus* bekannt. Etwa 20 von ihnen werden als Verursacher von Infektionskrankheiten gesehen. Nicht alle Arten dieser Gattung werden zu den *Deuteromyceten* gezählt (Hahn, 2009) (Hof & Dörries, 2009; U. Kück, 2009). Neben seinem ubiquitären Vorkommen, leben zahlreiche *Aspergillus*-Arten saprophytär auf toter organischer Materie. Diese Arten bevorzugen oft Habitate die schlecht belüftet und leicht feucht sind.

Makroskopisch wird die Kolonie (schnell wachsend) zunächst auf Pigmentierungen überprüft. Für eine genaue Identifizierung, wird die Nebenfrucht des Stammes beurteilt.

Dabei werden die Konidiophore und die Konidien auf Form, Farbe und Größe bewertet. Weiterhin liefert die Differenzierung von Vesikel, Phialiden und Sporangium eine wertvolle Aussage über die einzelnen Arten (Rüschendorf, 2007; Dermoumi, 2008; B. Neumeister, 2009). Die genannten Pilzelemente sind in Abbildung 15 A dargestellt.



**Abbildung 15: Mikroskopische Pilzelemente von *Aspergillus* spp. und *Penicillium* spp. (nach (Rüschendorf, 2007))**

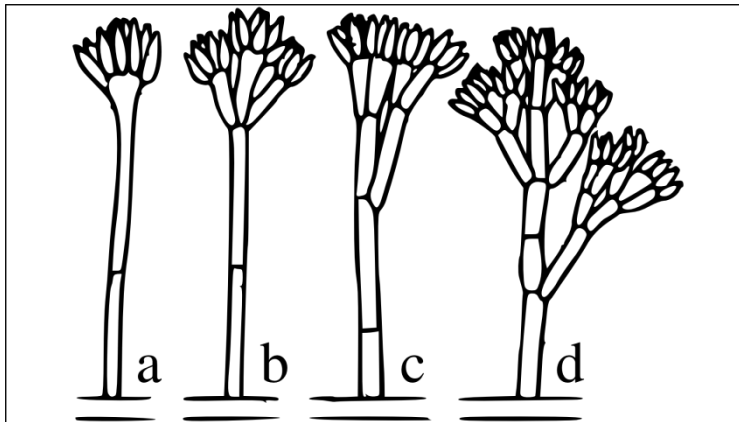
Der Teil A zeigt die Nebenfrucht eines *Aspergillus*-Stammes. Die Pilzelemente, die für die mikroskopische Identifizierung wichtig sind, wurden in der Abbildung gekennzeichnet. B illustriert ein mikroskopisches Erscheinungsbild von *Penicillium*. Wie in A sind die wichtigsten Bestimmungsmerkmale bezeichnet.

#### 4.2.3.2 *Penicillium*

Diese Gattungen kommen überall in der Umwelt vor. Viele von ihnen leben terrestrisch oder an Pflanzen, um z.B. Zellulose abzubauen. Zurzeit sind ungefähr 900 verschiedene Arten bekannt. Ein geringer Teil davon kann schwerwiegende Infektionen verursachen. Diese Arten tolerieren Bebrütungstemperaturen bis 45°C. Die meisten Arten wachsen jedoch nur selten bei 37°C, wodurch bei diesen die Humanpathogenität umstritten ist. Typisch für das makroskopische Erscheinungsbild sind die radiären Furchen die sich aus der Mitte heraus zum Rand hinstrecken. Das mikroskopische Erscheinungsbild zeigt die charakteristische „Pinselform“ der Nebenfrucht, die bereits bei einer 100-fachen Vergrößerung zu erkennen ist. An ihr sind die zu bestimmenden Pilzelemente vorhanden. Dazu zählen Anzahl und Art der Verzweigungen (Abb. 16),



Größe und Form der Phialiden sowie die Länge, Form und Farbe der Metula (Abb. 15 B)(Hof & Dörries, 2009; Rüschenhof, 2007; Dermoumi, 2008).



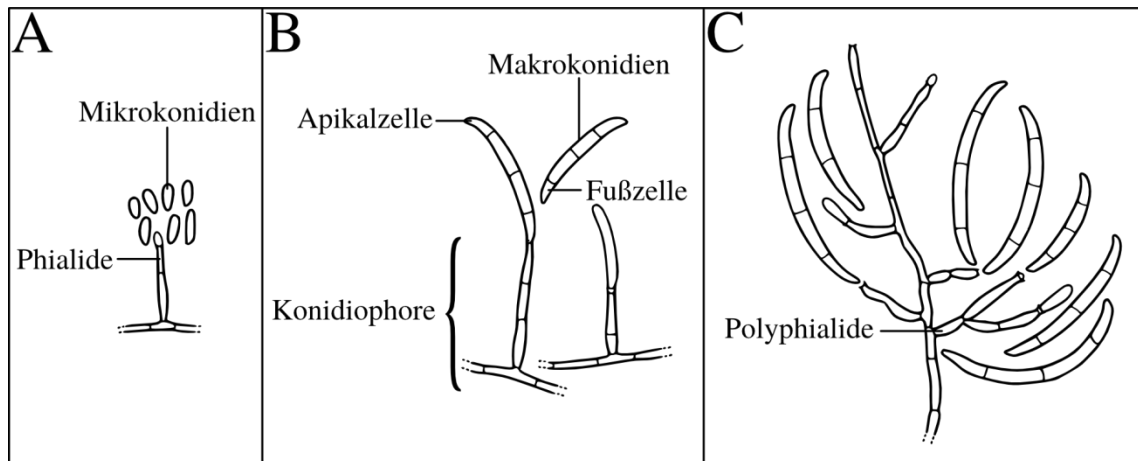
**Abbildung 16: Verzweigungsarten von *Penicillium* spp. (nach (M. Kirchmair, 2001))**

In der Abbildung sind die verschiedenen Verzweigungsarten illustriert, die in der Gattung *Penicillium* auftreten können. Bei den Konidiomata können differente Verzweigungsstufen vorkommen, wobei man symmetrisch oder asymmetrisch unterscheidet (M. Kirchmair, 2001). a monoverticillat, b biverticillat, c terverticillat, d polyverticillat

#### 4.2.3.3 *Fusarium*

Die Gattung *Fusarium* findet sich häufig in terrestrischen Habitaten, weshalb sie eine hohe phytopathologische Bedeutung haben. Häufig kommt es zu Ernteaussfällen, wenn *Fusarien* z.B. das Getreide befallen. Nicht selten werden in die Pflanze Toxine abgegeben, die für den Menschen schädlich sind. Man achtet daher auf einen bestimmten Prozentsatz, der an Toxizität in Brotgetreide und Tierfutter nicht überschritten werden darf.

Betrachtet man die *Fusarien*-Kultur, wächst diese gut bei Raumtemperatur. Die Konidienbildung wird durch einen Temperaturabfall in der Nacht angeregt. Allgemein wächst die Kultur sehr langsam und verträgt kein helles Licht (wirkt hemmend). Im mikroskopischen Bild zeigen sich charakteristische Makrokonidien, die sichel- bis spindelförmig erscheinen. Bestimmungsparameter ist hier die Form und Größe. Gleiches trifft auf die Mikrokonidien zu, wobei diese nicht bis maximal einmal septiert sind (Abb. 17) (Dermoumi, 2008) (M. Kirchmair, 2001).



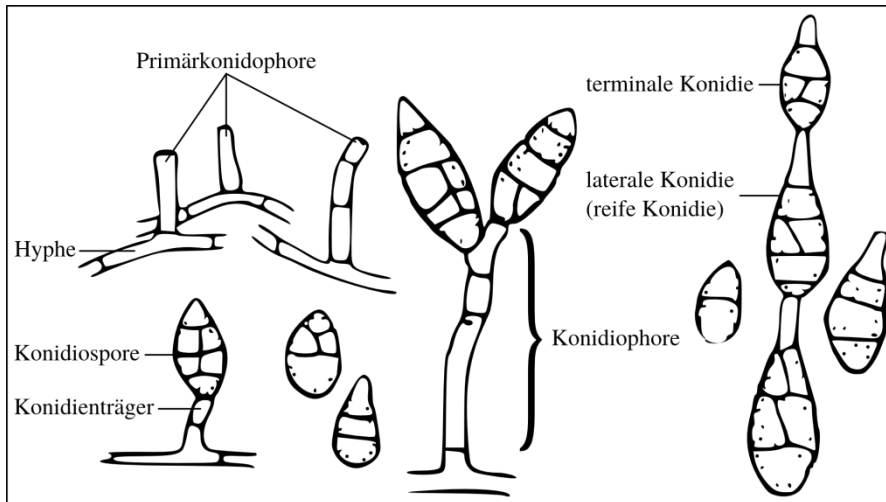
**Abbildung 17: Mikroskopisches Erscheinungsbild von *Fusarium***

Im Teilabschnitt A ist eine Phialide zu erkennen, die Mikrokonidien freisetzt. B illustriert die wichtigsten Pilzelemente zur Differenzierung der *Fusarien*. Der letzte Abschnitt zeigt ein mögliches mikroskopisches Bild mit Makrokonidien.

#### 4.2.3.4 *Alternaria*

Zurzeit sind von der Gattung *Alternaria* rund 300 Arten bekannt. Die meisten von ihnen sind, wie die meisten *Fusarien*-Arten, pflanzenpathogen und gelangen über die Nahrung in den menschlichen Organismus. Einige Arten können an feuchtem Mauerwerk wachsen und bei massivem Auftreten können sie beim Menschen erhebliche Allergien ausbilden.

Die Kultur wächst bei Temperaturen bis 30°C und zeigt eine grau bis oliv-schwarze Oberfläche. Charakteristisch im mikroskopischen Bild sind die mehrzelligen Konidien, welche auch für die Bestimmung (Form, Größe, Septierung) betrachtet werden. Ein weiteres wichtiges Differenzierungsmerkmal ist die Art, wie die Konidien an der Konidiophore wachsen (z.B. kettenförmig, verzweigt) (M. Kirchmair, 2001) (U. Kück, 2009; B. Neumeister, 2009; Dermoumi, 2008). In Abbildung 18 sind die Bestimmungsmerkmale illustriert und benannt.



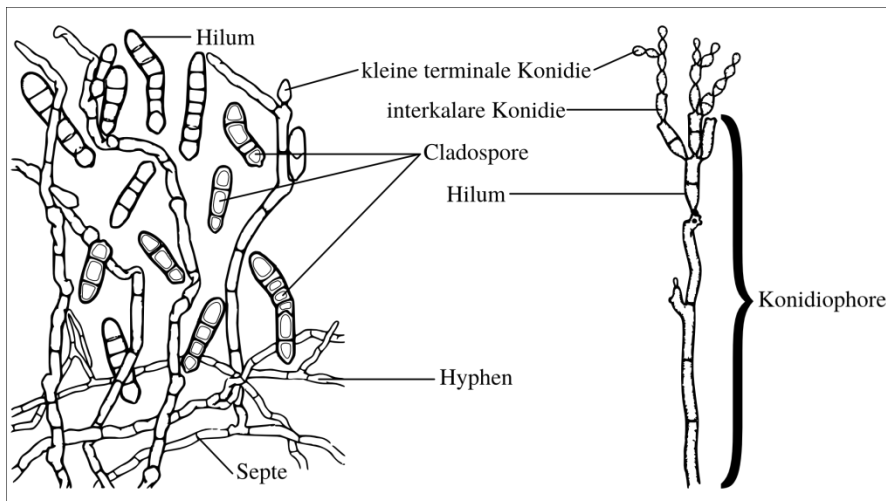
**Abbildung 18: Mikroskopisches Erscheinungsbild von *Alternaria* spp.**

An der rechten Seite sind Konidien abgebildet, die eine Kettenform aufweisen. Links zeigen sich Hyphen, die mit der Ausbildung der Konidiophore beginnen sowie bereits begonnen haben, Konidien zu entwickeln. In der Mitte befindet sich eine Konidiophore mit beginnender Verzweigung der Konidien.

#### 4.2.3.5 *Cladosporium*

Ein Großteil der Arten kommt in Wiesen und auf verfaulten Pflanzen vor. Dadurch können sie bis zu 90% aller in der Luft vorkommenden Schimmelsporen ausmachen. Derzeit sind ca. 50 Arten bekannt.

Die Kulturen wachsen langsam bei nicht mehr als 32-37°C. Mikroskopisch dienen die Größe und Form der Konidien der Differenzierung (Abb.19) (B. Neumeister, 2009).



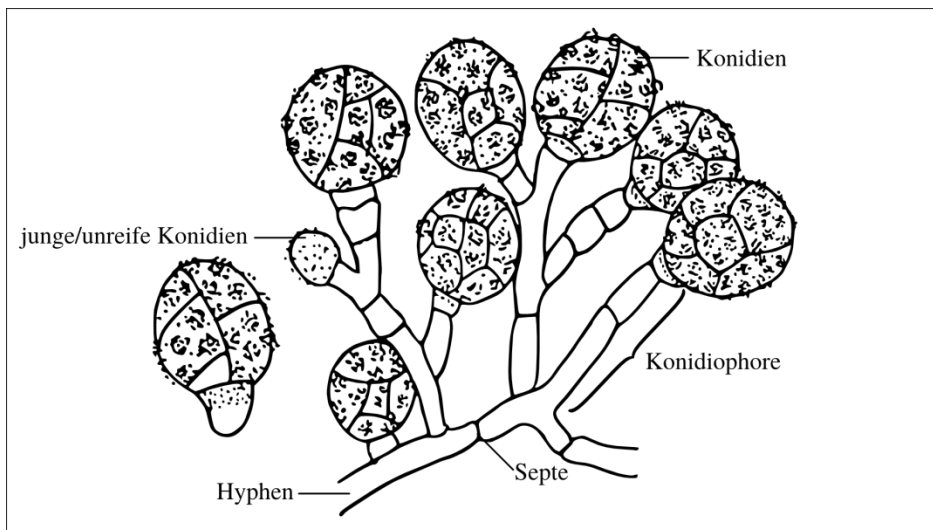
**Abbildung 19: Mikroskopische Bestimmungsmerkmale von *Cladosporium***

Die Abbildung zeigt die mikroskopischen Bestimmungsmerkmale. Auf der linken Seite befindet sich ein möglicher Auszug aus einem mikroskopischen Gesichtsfeld. Die rechte Seite zeigt eine Konidiophore mit einer kettenförmigen Anordnung der Konidien.

#### 4.2.3.6 *Epicoccum*

Die Gattung *Epicoccum* ist weltweit verbreitet und lebt hauptsächlich saprophytär. Zum Großteil kommen die verschiedenen Arten auf Getreide vor.

Die Kolonie ist schnell wachsend und färbt sich orange-braun. Teilweise besteht eine braune bis schwarze Pigmentierung. Im mikroskopischen Bild zeigen sich braune, rund wachsende Konidien, die traubenartig an den Hyphen gebildet werden (URL4, 2014). Die Größe, Form und Anordnung der Konidien ist dabei ein wichtiges Einteilungskriterium (Abb. 20).



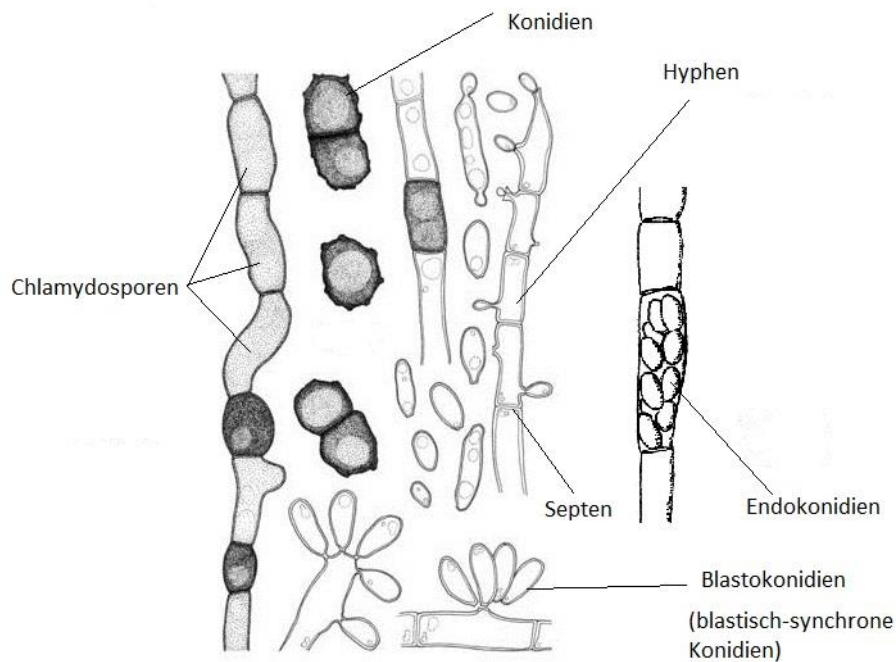
**Abbildung 20: Mikroskopische Bestimmungsmerkmale von *Epicoccum* spp.**

In der Abbildung ist eine traubenförmige Anordnung der Konidien an einer Hyphe illustriert. Dabei wurden reife Konidien als auch junge und unreife Konidien dargestellt.

#### 4.2.3.7 *Aureobasidium*

Häufig wird die Gattung *Aureobasidium* auch den *Basidiomyceten* auf Grund der Wuchsform zugeordnet. Die verschiedenen Arten befinden sich oft an Früchten und Pflanzen, können aber auch an Baumaterial zu finden sein.

Makroskopisch zeigt sich eine schwarz-braune, samtige Kultur. Der Schimmelpilz ist hefeähnlich und weist ein schnelles Wachstum auf. Im mikroskopischen Bild zeigen sich hyaline länglich-ovale Konidien die an den Hyphen angelagert sind (URL5). In Abbildung 21 sind die markantesten Pilzelemente gekennzeichnet.



**Abbildung 21: Mikroskopische Bestimmungsmerkmale von *Aureobasidium* spp.**

In der Abbildung sind die verschiedenen Formen der Konidien-Ausbildung dieser Gattung dargestellt. Für gewöhnlich kommen diese jedoch nicht gleichzeitig vor. Ihre Bildung ist abhängig von den zeitlichen Umweltbedingungen.

### 4.3 Webpräsentation

Die erarbeiteten Informationen zur mikroskopischen und makroskopischen Differenzierung der ausgewählten Schimmelpilze, werden auf einer darauf angepassten Webseite dargestellt. Als Erläuterung der verschiedenen Pilzelemente dienen sowohl ein Bildband als auch ein Fachtermini Bereich. Augenmerk wurde auf einen schnellen Überblick aller Schimmelpilze und einfache Orientierung auf der Seite gelegt. Über die Hochschule Mittweida wird jedem Studenten die Möglichkeit geboten, eine eigene Homepage zu erstellen. Dazu steht der Link <http://www.student.hs-mittweida.de/~username> zur Verfügung.

Die Webseite ist so aufgebaut, dass sie vom interessierten bis hin zum versierten Kenner zur Identifizierung, aber auch zur Informationsbeschaffung ausgewählter Schimmelpilze verwendet werden kann.

#### 4.3.1 Anforderungen

Die gesammelten Informationen über die lederbefallenden Schimmelpilze wurden mit der Auszeichnungssprache HTML strukturiert. Dabei wurden Texte, wie auch Bilder

eingebunden. Die Gestaltung der Webseite erfolgte durch CSS. Des Weiteren wurde PHP verwendet. Zum Schluss wurde die Webseite erfolgreich unter Mozilla-Firefox und Google-Chrom getestet.

#### **4.3.2 Ansprüche**

Mit der Webseite sollen alle vorhandenen Informationen so kompakt und übersichtlich wie möglich dargestellt werden. Dabei soll jedoch der volle Informationsumfang erhalten bleiben sowie ein ansprechendes und benutzerfreundliches Design erstellt werden. Zudem soll es dem Nutzer möglich sein, die gesammelten Informationen in den originalen Quellen, durch Literaturangabe auf der Seite nachzulesen. Die fachspezifischen Vokabularien sind durch den Fachtermini-Bereich und einen umfangreichen Bildband ausreichend erklärt und visuell abgebildet.

#### **4.3.3 Webseitengestaltung**

##### **4.3.3.1 CSS**

Bei der Erstellung und Gestaltung der Webseite wurden der Inhalt und das Design strikt getrennt bearbeitet. Das Stylesheet beinhaltet Format- und Layoutangaben, die in eine separate CSS-Datei ausgelagert wurden. Diese Datei (*design.css*) befindet sich im Unterordner *css* (siehe Anhang).

##### **4.3.3.2 HTML**

Für alle HTML-Dateien wurden Unterordner erstellt. In die jeweils angelegten Verzeichnisse sind themenbezogene Abbildungen sowie die HTML-Dateien abgelegt. Letztere beinhalten die gesammelten Informationen zu den einzelnen Schimmelpilzen.

##### **4.3.3.3 PHP**

Im Rootverzeichnis wurde die Datei *index.php* angelegt. Sie gewährleistet die automatische Einbindung der Homepage und damit deren Aufruf. Die Index-Datei enthält einen PHP-Funktionsaufruf, der Kopf-, Fuß- und Menüzeile nur einmal lädt, so dass bei einem Aufruf lediglich der Hauptteil neu geladen wird. Dadurch spart man Datenvolumen und vermeidet zu lange Ladezeiten bei einem Neuaufruf.

##### **4.3.3.4 Abbildungen**

Im Unterordner *images* befinden sich „Funktionsabbildungen“ die auf der Webseite verwendet werden wie z.B. Pfeilelemente oder Favicon.

### 4.3.4 Webseitenaufbau

#### 4.3.4.1 Kopfzeile

Die Kopfzeile zeigt als Hintergrundbild eine mikroskopische Aufnahme von *Alternaria brassicola* (URL3, 2012). In die Abbildung wurde der Schriftzug „*FungiAssistent*“ orange hinterlegt.

#### 4.3.4.2 Navigation

Das intuitive Menü ermöglicht dem Nutzer die Navigation durch die Webseite. Dabei kann man zwischen sieben Reitern (Startseite, Makroskopisch, Mikroskopisch etc.) wählen, um an die gewünschten Informationen zu gelangen. Beim Anwählen der Menüpunkte mit dem Cursor werden diese blau hervorgehoben. Dieser Effekt wurde durch die Pseudoklasse `:hover` im CSS-Stylesheet umgesetzt. Zudem wurden für die Punkte Makros- und Mikroskopisch jeweils ein Unterregister erstellt, in dem die einzelnen Gattungen der Schimmelpilze erscheinen. Die Abbildung 22 zeigt einen Auszug aus der Datei `menue.html`. Dabei ist die Untergliederung im Menü-Punkt Makroskopisch bis zur dritten Ebene zu erkennen.

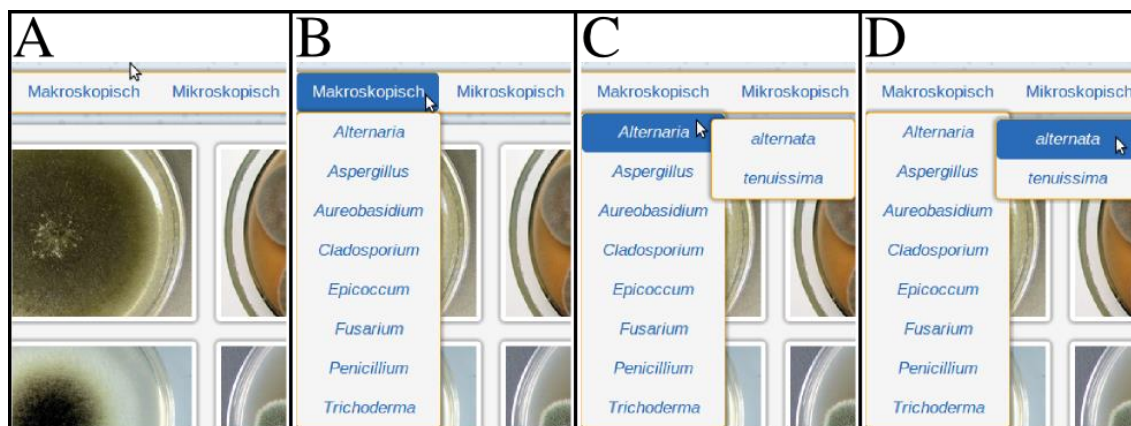
```
1 <nav>
2   <ul>
3     ...
4     <li><a href="index.php?section=makroskopisch">Makroskopisch</a>
5       <ul>
6         <li><a href="index.php?section=makroskopisch_alternaria"><i>
7           Alternaria</i></a>
8           <ul>
9             <li><a href="index.php?section=alternaria_alternata"><i>
10              alternata</i></a></li>
11             <li><a href="index.php?section=alternaria_tenuissima"><i>
12              tenuissima</i></a></li>
13           </ul>
14         </li>
15       </ul>
16     </li>
17     ...
18   </ul>
19 </nav>
```

**Abbildung 22: Auszug aus `menue.html`**

Abgebildet ist die Struktur des Menüs am Beispiel des Menü-Punktes Makroskopisch mit allen Untermenü-Punkten (Zeile 4 bis 11).

Die Gattungen im Unterregister können gleichermaßen benutzt werden, um zusätzlich die Art der jeweiligen Gattung zu erfahren. Dieses soll eine schnellere Orientierung und

Zielführung ermöglichen. Hierbei wurde der gleiche Effekt wie im Menü (*hover*) verwendet (Abb. 23).



**Abbildung 23: Exemplarische Darstellung der Navigation bis zur dritten Ebene**

In A ist einen Ausschnitt der Oberfläche dargestellt. B zeigt die Navigation mit dem Cursor über den Menü-Punkt Makroskopisch. Dabei wechselt die Hintergrundfarbe des Registers nach blau. Im nächsten Ausschnitt (C) erfolgt die Auswahl der Gattung in der zweiten Ebene. Wobei ein neues Register erscheint und wiederum die Art (Ausschnitt D) ausgewählt werden kann.

#### 4.3.4.3 Content

Beim Aufrufen der Navigationsfunktionen werden die abgelegten Inhalte im Content-Bereich geladen. Die Startseite bietet dem Nutzer die Möglichkeit, kurze und prägnante Informationen zur Webseite zu erhalten. Die einleitenden Worte der Startseite bieten einen Einstieg in die Thematik und vermitteln zu dem die Grundgedanken und den Aufbau der gesamten Webseite. Weiterhin wurde ein YouTube-Video eingebettet, was eine Zeitrafferaufnahme verschiedener Schimmelpilze zeigt. Dieses Video stammt aus dem YouTube-Kanal *Lariontsev* und trägt den Originaltitel „Mold Time Lapse“. Die nachfolgende Abbildung zeigt die Einbettung in das HTML-Dokument.

```
1 <iframe src="https://www.youtube.com/embed/JsQHWj2RfXg" width="640"
  height="385" frameborder="0" allowfullscreen ></iframe>
```

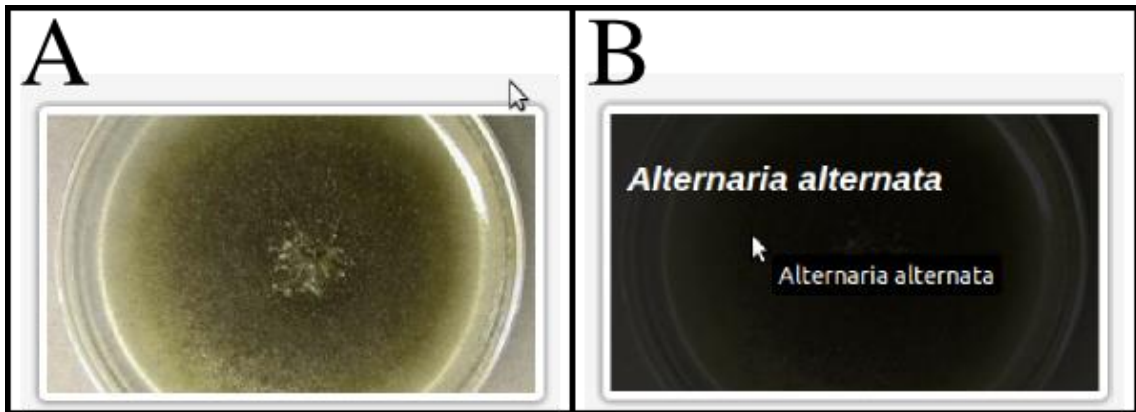
**Abbildung 24: Einbindung in das HTML-Dokument**

Das `iframe`-Attribut `src` bindet das YouTube-Video ein. Dabei ist dieses Element interaktiv, d.h. der Nutzer kann es abspielen, stoppen, in den Vollbildmodus erheben und die Lautstärke regeln.

Unter dem eingebetteten Video ist das Kooperationsverhältnis zwischen der HS-Mittweida und dem Forschungsinstitut für Leder und Kunststoffbahnen (FILK) beschrieben. Die darunter befindlichen Logos (HS-Mittweida, BigM, FILK) sind auf die



jeweiligen Seiten verlinkt. Anfangs stellen sich diese grau dar. Beim Navigieren mit dem Maus-Cursor wechselt das Logo in seine eigentliche Färbung. Dieser Effekt wird durch die Kombination der Pseudoklasse `:hover` und dem CSS-Filter `grayscale` erzielt. Durch die Übersicht der makroskopischen Bildervorschau kann eine erste Vorauswahl des interessierenden Schimmelpilzes getroffen werden. Zu dem erscheint der Name des Schimmelpilzes beim Navigieren mit dem Maus-Cursor und das Bild wird im Hintergrund abgedunkelt. Der beschriebene Effekt konnte, wie schon im Menü-Bereich mit der Pseudoklasse `:hover` umgesetzt werden. Zusätzlich wurde eine transparent werdende Ebene über die jeweilige Abbildung „gelegt“ (Abb. 25). Um die vollständigen Informationen zu diesem Pilz zu erhalten, lässt sich das Bild anklicken und kommt anschließend auf die Folgeseite, die der Identifizierung dient. Auf gleiche Weise erfolgt die Navigation durch die mikroskopischen Bilder.



**Abbildung 25: Makroskopische Bildervorschau am Beispiel *Alternaria alternata***

Die Abbildung zeigt das Vorher-nachher Gesichtsfeld im makroskopischen Menü-Punkt. In A erkennt man das makroskopische Erscheinungsbild von *Alternaria alternata*. Mit dem Navigieren des Maus-Cursors über die Abbildung, wird der Effekt ausgelöst. Dabei wird der Name des Schimmelpilzes angezeigt und die Abbildung im Hintergrund durch eine schwarze transparente Ebene abgedunkelt.

Die molekularphylogenetischen Bestimmungsmerkmale, die zur Differenzierung auf sequenzieller Ebene dienen, sind in tabellarischer Form unter dem Menü-Punkt Sequenziell aufgeführt. Die Namen der Schimmelpilzarten sind direkt auf die informationsgebende Seite verlinkt. Der Tabellenkopf zeigt die Bestimmungsmerkmale in Kurzform, wobei beim Navigieren mit dem Cursor über die Abkürzung der vollständige Name erscheint. Über das Attribut *title* wird der Abkürzung der vollständige Name als Meta-Information übergeben. Die vollständige Bezeichnung wird in Form eines Tooltip an der rechten unteren Seite des Maus-Cursors angezeigt, sobald

sich dieser auf der Abkürzung befindet. Der Inhalt der Tabelle zeigt die Anzahl der sequenziell vorkommenden Region. Beim Anklicken der Zahl erscheinen die Sequenz-ID des NCBI, die Datenbank-ID, die Sequenzlänge und das Datum der letzten Änderung in einem modalen Dialogfenster. Das heißt, das Fenster ist exklusiv, so dass Anwendungen auf der Hauptseite bis zum Schließen des Fensters nicht mehr durchgeführt werden können. Die hinterlegten Informationen sind in die Datei *sequenziell.html* integriert und mit einem lokalen Verweis (Anker Element) versehen. Durch die Pseudoklasse *:target* konnte das CSS-basierte Dialogfenster erzeugt werden. Die Abbildung 26 zeigt ein modales Dialogfenster. Der Inhalt ist in tabellarischer Form dargestellt und beinhaltet die bereits erwähnten Einteilungspunkte. Die beiden ID's sind zu den jeweiligen Datenbankeinträgen direkt verlinkt (Öffnen eines neuen Tabs). Diese können dabei unterschiedlich zueinander sein. Nicht jede Datenbank ermöglicht eine Direktverlinkung. Eine Verlinkung (von den bekanntesten DB hergesehen) ist über die DNA Data Bank of Japan (DB ID: dbj), European Molecular Biology Laboratory (DB ID: emb), National Center for Biotechnology Information (NCBI) GenBank (DB ID: gb) und der NCBI Reference Sequence Database (DB ID: ref) möglich.

**Sequenziell**

*Alternaria alternata* - ITS2  
NCBI GenBank - Sequenz ID

NCBI Sequenz ID	Datenbank ID	Sequenzlänge	Datum
19031323	emb AJ437298.1	528	27-FEB-2002
19031319	emb AJ437294.1	527	27-FEB-2002
19031318	emb AJ437293.1	551	27-FEB-2002
311765874	emb FR717899.1	540	08-NOV-2010
189046991	dbj AB369443.1	527	23-MAY-2008
7208647	emb AJ276055.1	538	09-AUG-2000
66062962	gb DQ011257.1	601	22-MAY-2005
403243947	gb JX308311.1	573	11-SEP-2012
359359394	gb JN247829.1	572	10-DEC-2011
251734350	gb GQ221851.1	1070	11-JUL-2009
50882022	gb AY679723.1	419	07-AUG-2004

Fenster schließen

	ALP	ALP Ex.
<i>Alternaria alternata</i>	0	0
<i>Alternaria tenuissima</i>	0	0
<i>Aspergillus glaucus</i>	0	0
<i>Aspergillus niger</i>	0	0
<i>Aspergillus penicillio</i>	0	0
<i>Aspergillus versicolor</i>	0	0
<i>Aureobasidium pullulans</i>	5	17

**Abbildung 26: Modales Dialogfenster**

Die Abbildung zeigt ein modales Dialogfenster am Beispiel von *Alternaria alternata* und ihrer ITS2-Region. Im Hintergrund befindet sich die Tabelle mit enthaltenen Anzahlen zu den sequenziell bedeutenden Regionen. Diese ist mit einer transparenten Ebene überdeckt. Im Kopf des Dialogfensters werden der Name des Schimmelpilzes sowie die Region dargestellt. Der angewählte Eintrag in der Tabelle wird grau hinterlegt. Das Fenster lässt sich durch den Button „Fenster schließen“ beenden.

Die Tabelle im Dialogfenster ist ähnlich der Tabelle der Hauptseite (Sequenziell) aufgebaut. Auch hier werden die Inhalte mit einem grauen Balken unterlegt, wenn sie mit dem Maus-Cursor angewählt werden. Dieser Effekt wird durch die Pseudoklasse `:hover` realisiert. In Abbildung 27 ist ein Ausschnitt des Codes der modalen Fensterstruktur der Datei *sequenziell.html* dargestellt. In den Code sind die Verlinkungen zu den Datenbanken EMBL und NCBI GenBank eingebettet. Durch das Anhängen der jeweiligen Datenbank ID an den Link, kann ein Direktlink zum Datenbankeintrag erzeugt werden. Die Sequenzlänge, sowie das Datum der letzten Änderung wurden aus dem NCBI FlatFile extrahiert und eingetragen. Dabei gibt die Sequenzlänge zusätzliche Informationen; z.B. den Unterschied und die Ähnlichkeit der Sequenzen zueinander.

```

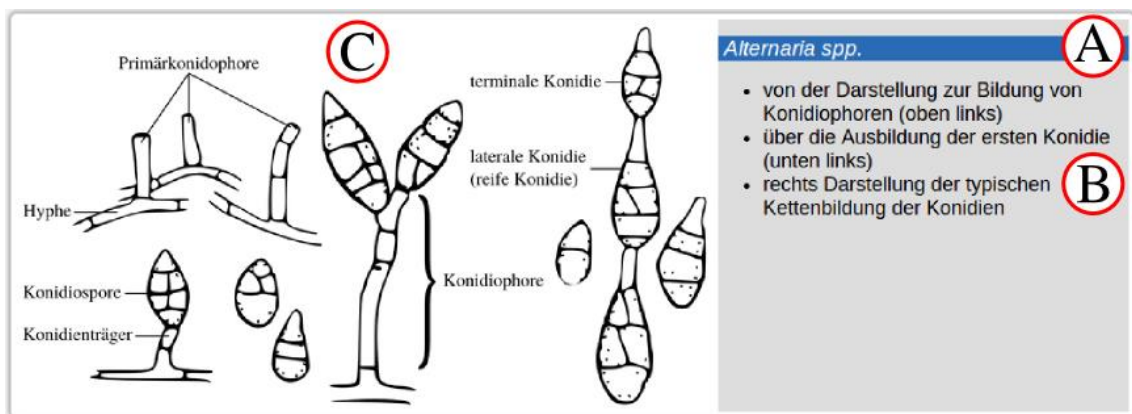
1 <div id="alternaria_alternata_ITS2" class="modalDialog">
2   <div>
3     <h2><i>Alternaria alternata</i> - <strong>ITS2</strong></h2>
4     <h2>NCBI GenBank - Sequenz ID</h2>
5     <div class="IDtable">
6       <table>
7         <tr>
8           <tr class="head">
9             <th><a title="NCBI GenBank - GenInfo Identifier (GI)">NCBI
              Sequenz ID</a></th>
10            <th><a title="Datenbank ID">Datenbank ID</a></th>
11            <th><a title="Sequenzlänge in bp">Sequenzlänge</a>
              </th>
12            <th><a title="Datum der letzten Modifizierung">Datum</a></th>
13          </tr>
14
15          <tr class="alt">
16            <td><a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/19031323"
              target="_blank">19031323</a></td>
17            <td><a href="http://www.ebi.ac.uk/ena/data/view/AJ437298.1"
              title="EMBL Data Library AJ437298.1" target="_blank">emb
              AJ437298.1</a></td>
18            <td>528</td>
19            <td>27-FEB-2002</td>
20          </tr>
21          ...
22        </table>
23        <a href="#schliessen" title="Fenster schließen" class="
              schliessen">Fenster schließen</a>
24      </div>
25    </div>
26  </div>

```

**Abbildung 27: Ausschnitt aus dem Code des Dialogfensters**

Auf den Zeilen 1 bis 26 ist die grundlegende Struktur des modalen Dialogfensters der Datei *sequenziell.html* am Beispiel von *Alternaria alternata* und der ITS2-Region dargestellt. Der Bereich trägt die ID *alternaria\_alternata\_ITS2*. Diese dient als lokaler Verweis für den Aufruf über den Hyperlink. In Zeile 3 und 4 ist der Inhalt des Tabellenkopfes beschrieben. Zum Schluss wird das Fenster über den „Fenster schließen“ Link geschlossen.

Der Menü-Punkt Bildband ermöglicht einen fachspezifischen Einblick in die thematischen Gattungen durch Illustrationen. Dabei sind die mikroskopisch relevanten Pilzelemente, die zur Differenzierung dienen, gekennzeichnet. Die gattungsbezogenen Abbildungen mit Beschreibung sind jeweils in grau unterlegte Boxen integriert. Insgesamt stehen dem Nutzer neun dieser Boxen mit Beschreibung zur Verfügung die in der Datei *bildband.html* eingebettet sind. Abbildung 28 zeigt ein Beispiel einer solchen Box. Wobei die Beschreibung und Illustration auf *Alternaria spp.* fällt.



**Abbildung 28: Box des Webseitenmenüs Bildband**

Die abgebildete Box des Bildbandes ist in zwei Bereiche gegliedert. Der erste Bereich der mit A und B gekennzeichnet ist, bilden die Beschreibung zur Abbildung. A ist dabei der blau unterlegte Titel der Box und B die eigentliche Beschreibung die sich durch einen grau hinterlegten Bereich von der Abbildung abgrenzt. Mit C ist der zweite Bereich gekennzeichnet, der die Abbildung der Pilzelemente und deren Beschriftung offeriert.

Die nächste Abbildung zeigt den Aufbau der HTML-Struktur exemplarisch durch *Atlernaria spp.*

```

1  ...
2  <div id="bbox">
3    <div id="img">
4      <a title="Alternaria spp.">
5        
6      </a>
7    </div>
8    <div id="bboxdescr">
9      <h2><i>&nbsp;Alternaria spp.</i></h2>
10     <ul>
11       <li>von der Darstellung zur Bildung von Konidiophoren (oben
          links)</li>
12       <li>&uuml;ber die Ausbildung der ersten Konidie (unten links)
          </li>
13       <li>rechts Darstellung der typischen Kettenbildung der
          Konidien</li>
14     </ul>
15   </div>
16 </div>
17 ...

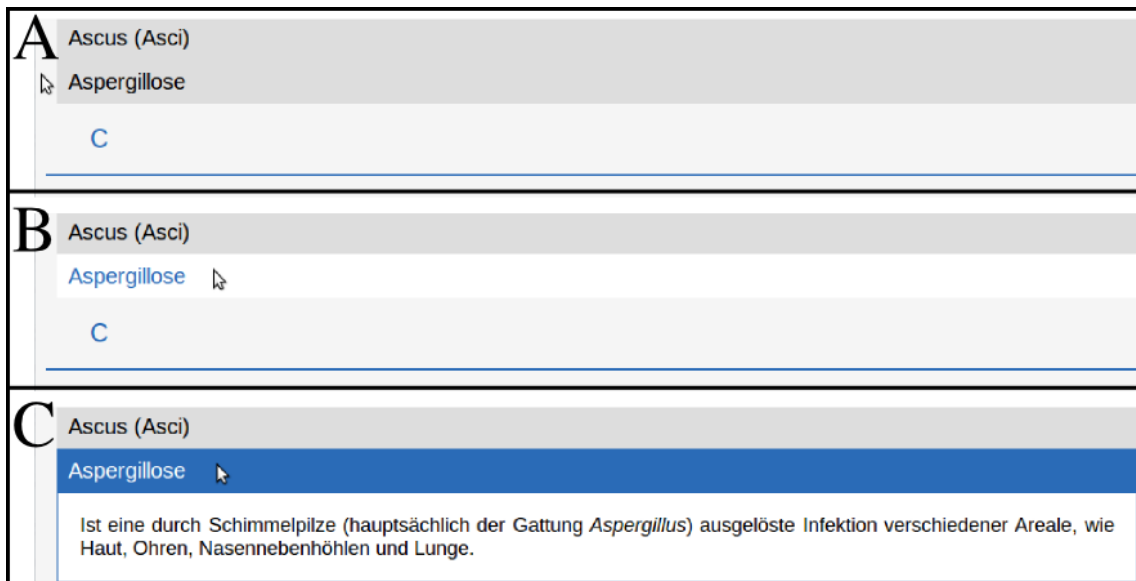
```

**Abbildung 29: Auszug aus der Datei *bildband.html***

An dem Auszug der Datei *bildband.html* ist ersichtlich, dass die Struktur in zwei Block-Elemente eingeteilt ist. Dabei wird einmal in Bild (id="image") und einmal in den Beschreibungsbereich (id="bboxdescr") gegliedert. Diese beiden Elemente werden durch das Block-Element (id="bbox") umschlossen und dient der Differenzierung der anderen beiden Block-Bereiche.

Im Menü-Punkt Fachtermini sind 43 alphabetisch geordnete Fachvokabularien aufgeführt, welche durch eine kurze und prägnante Beschreibung Aufschluss geben sollen. Die Buchstaben des am Seitenanfang befindlichen Index sind jeweils mit einem Hyperlink versehen. Dieser führt auf die Sprungmarke innerhalb der Datei *fachtermini.html*. Verweise innerhalb des Dokuments wurden mit dem Fragmentbezeichner Raute (#) gesetzt. Die hinterlegten Hyperlinks ermöglichen beim Anklicken des gewünschten Buchstabens die Navigation zur gesetzten Marke. Diese wird durch ein ID-Attribut im Unterabschnitt adressiert.

Die eigentlichen Begriffserklärungen sind für den Nutzer durch den Aufbau des Fachtermini-Bereiches im ersten Moment nicht sichtbar. Beim Anwählen des entsprechenden Begriffs öffnet sich ein blau umrandetes Fenster mit der inkludierten Beschreibung. Zeitgleich wird der ausgewählte Begriff blau unterlegt. Somit weiß der Nutzer, zu welchem Begriff er die Beschreibung liest. Durch diese Methodik konnte eine übersichtliche Darstellungsweise umgesetzt werden. In Abbildung 30 ist diese Accordion-Struktur am Beispiel der Aspergillose dargestellt.



**Abbildung 30: Accordion-Struktur des Fachtermini-Bereichs**

Die Abbildung zeigt am Beispiel der Aspergillose die Darstellung des CSS-basierten Accordions. In A ist ein Ausschnitt des Buchstabens A aus dem Fachtermini-Bereich illustriert. Im nächsten Abschnitt (B) erfolgte die Navigation des Maus-Cursors auf den Begriff „Aspergillose“. Hier bei färbt sich der Terminus blau ein und wird zusätzlich weiß hinterlegt (Effekt *:hover*). Durch das Anklicken des Begriffs öffnet sich darunter ein Fenster mit der Erläuterung zum Fachterminus und der Begriff wird blau unterlegt. Bei nochmaligen Anklicken wird die Checkbox deaktiviert und das Fenster wird geschlossen.

Das durch CSS umgesetzte Accordion wird mit dem Eingabe Typ Checkbox geöffnet und geschlossen. Dabei erlaubt dieser Typ, anders als der Radio-Button, das Aktivieren mehrerer Checkboxes simultan. Dadurch können weitere Fenster geöffnet werden. In Abbildung 31 ist ein Ausschnitt aus dem HTML-Code der Datei *fachtermini.html* illustriert. Die Checkbox ist nicht sichtbar. Sie wird jedoch durch das Klicken auf den fachspezifischen Begriff aktiviert oder deaktiviert. Das Accordion der CSS-Datei kann im Anhang CD gelesen werden.

```
1 ...
2 <h2 id="A">A</h2>
3 <hr>
4 <section class="ac-container">
5 ...
6     <div>
7         <input id="ac-6" name="ac[]" type="checkbox" />
8         <label for="ac-6"><a name="aspergillose">Aspergillose</a>
9             </label>
10        <article class="ac-medium">
11            <p>Ist eine durch Schimmelpilze (hauptsächlich der
12                Gattung <i>Aspergillus</i>) ausgelöste Infektion
13                verschiedener Areale, wie Haut, Ohren, Nasennebenhöhlen und Lunge.</p>
14        </article>
15    </div>
16 </section>
17 ...
```

**Abbildung 31: Umsetzung der Accordion-Struktur**

Die Abbildung zeigt einen Code-Ausschnitt aus der Datei *fachtermini.html*. Die Überschriftsebene 2 kennzeichnet den Unterabschnitt. Sie enthält das ID-Attribut des Buchstabens A. Darunter befindet sich das Section-Element, in dem sich alle fachspezifischen Begriffe beginnend mit A mit zugehöriger Beschreibung befinden. Der Ausschnitt zeigt den Begriff Aspergillose mit zugehörender Beschreibung in einem Block-Element. Darin befinden sich das Eingabefeld (input) vom Typ Checkbox mit ID sowie der interne Bezeichnername. Jeder Checkbox wird ein eigenes Label-Element zugeteilt. Das darin befindliche for-Attribut ist der zugehörigen Formularelement-ID zugewiesen. Zudem enthält es den fachspezifischen Begriff, im Beispiel Aspergillose. Das Article-Element schließt die Begriffserläuterung (Textabsatz) ein.

**4.3.4.4 Fußzeile**

Wie bereits erwähnt, ist die Fußzeile, wie auch die Kopfzeile statisch, d.h. sie wird einmal geladen. Zudem befinden sich hier das Copyright-Symbol, das aktuelle Jahr und der Logoschriftzug. Ebenso wurden zwei weitere Menü-Punkte (Impressum, Kontakt) eingefügt.

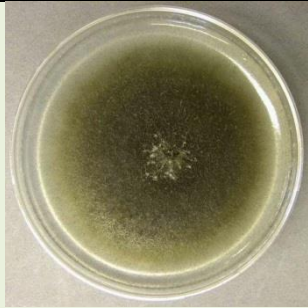



## 5 Ergebnisse

Die Ergebnisse sind auf der Webseite <http://www.student.hs-mittweida.de/~sfroebel> hinterlegt. In diesem Teil der Arbeit werden die Ergebnisse tabellarisch und in komprimierter Form dargestellt. Die Reihenfolge, in der die Ergebnisse besprochen werden, ist alphabetisch nach den Gattungen und entspricht der der Webseite. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurden die Quellen zu Informationen aus der Tabelle darunter geschrieben.

### 5.1 *Alternaria alternata*

**Tabelle 2: Ergebnissteil von *Alternaria alternata***

	Makroskopisch	Mikroskopisch
Darstellung		
Oberseite	grau über oliv bis schwarz, reisterrassenartiges Wachstum	
Konidien		bis 50 µm lang mehrzellig, braun, bootförmig 3-10 Unterteilungen (quer) 1-5 Unterteilungen (längs)
Konidiophore		Bis 50 µm lang

(Cannon, 2009; URL6; Dermoumi, 2008; Rüschenndorf, 2007)



*Alternaria alternata* ist in der Lage, Mykotoxine zu produzieren und abzugeben. Die beiden Mykotoxine sind Tenuazonsäure und Tentoxin. Zudem wirkt diese Schimmelpilzart hauptsächlich pflanzenpathogen und insektizid.

### 5.2 *Alternaria tenuissima*

Informationen zur Pathogenese oder andere Zusatzinformationen konnten nicht in Erfahrung gebracht werden.



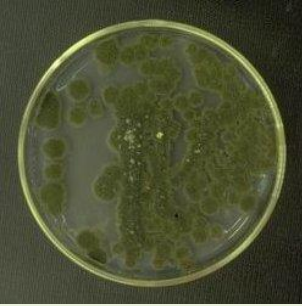
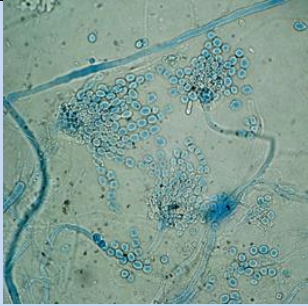
**Tabelle 3: Ergebnissteil von *Alternaria tenuissima***

	Makroskopisch	Mikroskopisch
Darstellung		
Oberseite	graugrün bis grauschwarz olivgrüner Ring mit gelben Zentrum	
Konidien		bis 95 µm lang 8-15 Konidienketten in jungen Kolonien mehrzellig, keulenförmig 3-10 Unterteilungen (quer) 1-5 Unterteilungen (längs)
Konidiophore		bis 70 µm lang

(URL7, 2014; URL8, 2014; ArgoAtlas, 2009; Silverside, 2011)

### 5.3 *Aspergillus glaucus*

**Tabelle 4: Ergebnissteil von *Aspergillus glaucus***

	Makroskopisch	Mikroskopisch
Darstellung		
Oberseite	dunkel grün bis grau türkis gelbe/orange Zonen	
Unterseite	farblos bis blass gelb	
Hyphen		glattwandig, septiert
Konidien		5 – 7 µm stachelig, rundlich bis oval hyalin
Konidiophore		700 – 800 µm lang x 2 – 3µm breit glattwandig, hyalin
Phialiden		bedecken die obere Partie des

		Vesikels
Vesikel		15 – 30 µm rund
Ascomata		75 – 125 µm dünnwandig, gelblich, kugelförmig
Asci		besitzt 8 Sporen
Ascosporen		6 – 7 µm x 7 – 5 µm hyalin, wenig bis stärker angeraut

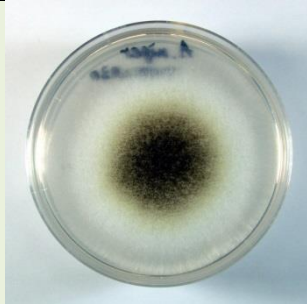

(URL9, 2012; URL10, 2005; Rüschenhof, 2007; URL11, 2013; URL12, 2013)

Bei dieser *Aspergillus*-Art ist die Metula nicht vorhanden. Dieser Punkt ist sogleich ein Differenzierungsmerkmal. Durch die Aufnahme von Sporen über die Luft in das Pulmonalgewebe kann es zu schweren Lungeninfektionen führen. Nach langer Inkubation der Sporen können im Organismus Systemmykosen entstehen, die tödliche Gehirninfektionen auslösen können.

#### 5.4 *Aspergillus niger*

Durch *Aspergillus niger* können verschiedene Infektionskrankheiten auftreten. Zudem kann sich eine Aspergillose entwickeln. Oxalsäure und Kojisäure zählen zu den Mykotoxinen die von *A. niger* produziert und abgegeben werden.

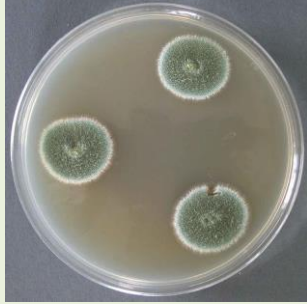

**Tabelle 5: Ergebnissteil von *Aspergillus niger***

	Makroskopisch	Mikroskopisch
Darstellung		
Oberseite	erst weiß bis schwefelgelb, später weißer Außenring, innen schwarz	
Unterseite	farblos bis schwach gelb in Falten gelegt	
Hyphen		glattwandig, septiert
Konidien		3,5 – 5 µm rund, rau, dickwandig, schwarzbraun
Konidiophore		400 – 3000 µm lang 15 – 20 µm breit glattwandig, hyalin bis bräunlich
Phialiden		dicht gereiht
Vesikel		50 – 100 µm kugelförmig
Metula		dicht gereiht

(Dermoumi, 2008; Rüschen-dorf, 2007; URL13, 2013; URL14, 2014; URL15, 1999; URL16, 2010; URL17; URL18, 2012)

## 5.5 *Aspergillus penicillioides*

**Tabelle 6: Ergebnissteil von *Aspergillus penicillioides***

	Makroskopisch	Mikroskopisch
Darstellung		
Oberseite	weißer Außenring, innen olivgrün	

Unterseite	gelblich bis weiß, blasgelb	
Hyphen		dünnwandig, glatt, hyalin
Konidien		3,0 – 4,3 µm lang rau, ellipsoid
Konidiophore		150 – 300 µm lang dünnwandig, glatt, hyalin
Phialiden		5,5 – 11 µm x 2,7 – 3,6 µm
Vesikel		10 – 20 µm birnenförmig


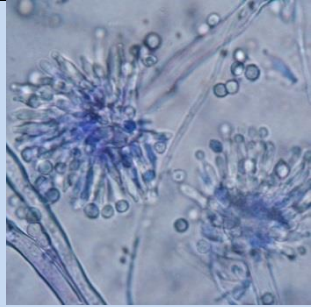
(URL22, 2014; URL23, 2014; Watanabe, 2010)

Informationen bezüglich der Pathogenese oder andere Zusatzinformationen konnten zu dieser Art nicht in Erfahrung gebracht werden.

### 5.6 *Aspergillus versicolor*

Diese Art kann kanzerogen wirken oder Onychomykosen auslösen. Unter letzterem sind Pilzinfektionen der Nägel, vor allem im Fußbereich gemeint. Zudem produziert *A. versicolor* das Mykotoxin Sterigmatocystin. Zusätzlich lässt sich eine Aussage zu den Wachstumseigenschaften treffen. In der Regel wächst die Kultur sehr langsam.

**Tabelle 7: Ergebnissteil von *Aspergillus versicolor***

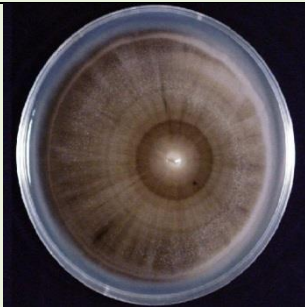
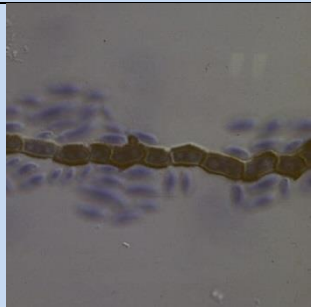
	Makroskopisch	Mikroskopisch
Darstellung		
Oberseite	weiß, hell grün, ockerfarben, olivgrün, orange oder fleischfarben	
Unterseite	variabel, oft aber tief violett	
Hyphen		glattwandig, septiert
Konidien		2 – 3,5 µm farblos, rau, rund
Konidiophore		200 – 400 µm lang 5 µm breit glattwandig, hyalin, gelblich, dünnwandig, blassbraun
Phialiden		5 µm
Vesikel		10 – 16 µm rund bis oval

(Dermoumi, 2008; Rüschendorf, 2007; URL19, 1999; URL20, 2013; URL21, 2014)

### 5.7 *Aureobasidium pullulans*

Bei *Aureobasidium pullulans* handelt es sich um einen hefeähnlichen Pilz, dessen Kolonie schnell wächst. Bis heute sind keine Mykotoxine bekannt. Durch eine Infektion mit dem Schimmelpilz kommt es häufig zu einer Phaeohyphomykose. Darunter versteht man chronische Infektionen der Haut und Unterhaut.

**Tabelle 8: Ergebnissteil von *Aureobasidium pullulans***

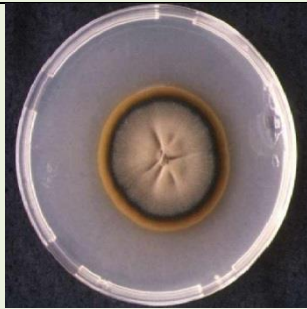
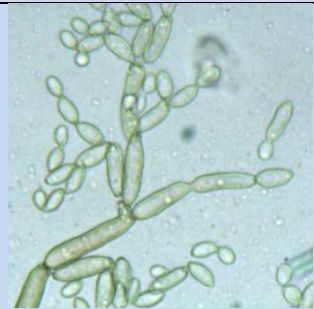
	Makroskopisch	Mikroskopisch
Darstellung		
Oberseite	schwarz braun, samtig	

Unterseite	schwarzes Zentrum tw. weiß bis hell orange	
Hyphen		dünnwandig, dicht septiert, dichotom verzweigt
Konidien		8 – 12 µm lang 4 – 6 µm breit hyalin, einzellig, ellipsoid

(URL24, 1999; URL25, 2014; URL26, 2014)

## 5.8 *Cladosporium cladosporioides*

Tabelle 9: Ergebnissteil von *Cladosporium cladosporioides*



	Makroskopisch	Mikroskopisch
Darstellung		
Oberseite	fast schwarz mit olivfarbener Tönung, samtig, gefaltet	
Hyphen		glattwandig, dunkelbraun 3,1 – 5,0 µm
Konidien		5,8 – 6,8 µm x 2,5 – 3,5 µm dunkelbraun, länglich bis oval
Konidiophore		bis 350 µm lang am Ende und den Seiten verzweigt
Rami		10,5 – 14,4 µm x 3,2 – 3,8 µm blass, zylindrisch

(URL27, 1999; URL28, 1999; Dermoumi, 2008; Watanabe, 2010)

*Cladosporium cladosporioides* besitzt ein langsames Koloniewachstum, deren Wachstumsoptimum bei 6-8°C liegt. Bei hohen Temperaturen hingegen stellt sich das Wachstum komplett ein. Diese Art kann zu Asthma und auf Grund allergischer Reaktionen zum Nesselfieber führen.

### 5.9 *Cladosporium herbarum*

**Tabelle 10: Ergebnissteil von *Cladosporium herbarum***

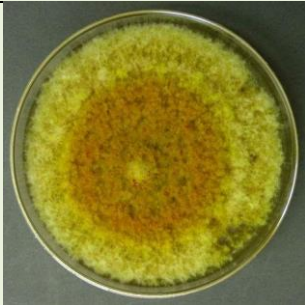
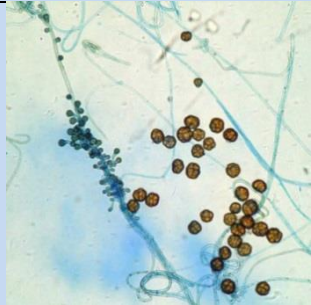
	Makroskopisch	Mikroskopisch
Darstellung		
Oberseite	olivgrün bis olivbraun, samtig	
Konidien		4 - 8 µm länglich oval, einzellig, Zellwände dunkelbraun
Konidiophore		bis 250 µm lang 4 - 8 µm breit
Rami		6 - 36 µm x 4 - 8 µm zylindrisch bis keulenförmig nicht bis 4 mal septiert

(Dermoumi, 2008; URL29, 2014; Mold Awareness , 2014; URL30, 1999)

Die Kolonie dieser Art wächst sehr langsam. Über 32°C wird das Wachstum komplett eingestellt. Bei Temperaturen unter 8°C verlangsamt sich das Wachstum, wenn man von eigentlichem Optimum ausgeht.

### 5.10 *Epicoccum nigrum*

**Tabelle 11: Ergebnissteil von *Epicoccum nigrum***

	Makroskopisch	Mikroskopisch
Darstellung		
Oberseite	gelblich bis orange, tw. radiäre Furchen oder reisterrassenartiges Wachstum	
Konidien		7 - 10 µm x 3 - 3,5 µm



(URL31, 2014; URL32, 2014; URL33, 2014)



Informationen bezüglich der Pathogenese oder zusätzliche Informationen z.B. über Wachstumseigenschaften konnten nicht in Erfahrung gebracht werden.

### 5.11 *Fusarium oxysporum*

**Tabelle 12: Ergebnissteil von *Fusarium oxysporum***

	Makroskopisch	Mikroskopisch
Darstellung		
Oberseite	rosagrau, samtig	
Unterseite	hell bis dunkel gelb	
Hyphen		hyalin, ohne Pigment
Konidien		
Mikrokonidien		5,0 - 12,0 µm x 2,3 - 2,5 µm elliptisch, ohne Unterteilung
Makrokonidien		23,0 - 54,0 µm x 3,5 µm fusiform bis sichelförmig 3 - 5 Unterteilungen
Konidiophore		8 - 14 µm lang, unseptiert
Phialiden		kurz, meist unseptierte Monophialiden

(Dermoumi, 2008; Rüschemdorf, 2007; URL34, 2012; URL35, 1999; URL36, 2014)

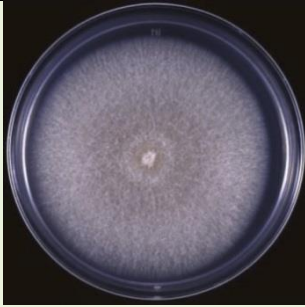
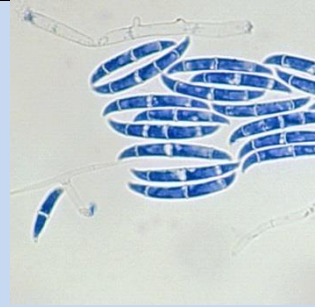
Die Art *Fusarium oxysporum* kann Auslöser von Onychomykosen und Hyalohyphomykosen sein. Wie bereits beschrieben, ist Ersteres die Entstehung von Nagelpilz, vor allem im Fußbereich. Unter der zweiten Mykose sind mehrere Pilzinfektionen zusammengefasst, die sich bei einer Infektion im Organismus ausbreiten. *F. oxysporum* bildet das Mykotoxin Zearalenon und gibt dieses an die Umgebung ab. Zudem ist dieser Schimmelpilz als Verunreiniger aus Wasser bekannt.

### 5.12 *Fusarium solani*

Unter allen bis jetzt untersuchten *Fusarien*-Arten zählt diese als die pathogenste. Zusätzlich besitzt sie eine hohe Antimykotikaresistenz. Durch *Fusarium solani* können Fusariose und Mycetome entstehen. Das abgegebene Mykotoxin ist Fusariotoxin T2 (T-2-Toxin).



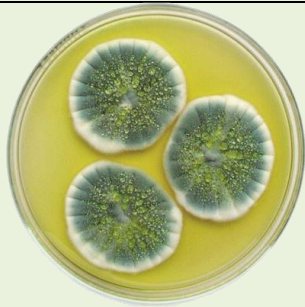
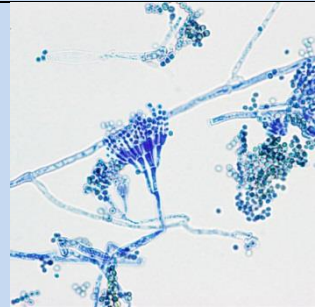
**Tabelle 13: Ergebnissteil von *Fusarium solani***

	Makroskopisch	Mikroskopisch
Darstellung		
Oberseite	violett	
Konidien		2 - 3 bis selten 5-kammerige, sichelförmige Makrokonidien

(URL37, 2014; URL38, 1999; URL39, 1999; URL40, 2012)

### 5.13 *Penicillium chrysogenum*

**Tabelle 14: Ergebnissteil von *Penicillium chrysogenum***

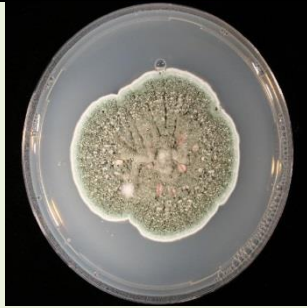

	Makroskopisch	Mikroskopisch
Darstellung		
Oberseite	radiäre Falten, anfangs gelbgrün, mit Konidienbildung blaugrün	
Unterseite	farblos bis gelb	
Hyphen		glattwandig, septiert
Konidien		3 - 4 µm lang 2,8 - 3,8 µm breit glattwandig, gelbgrün, parallel verlaufende Ketten
Konidiophore		200 - 300 µm lang 2 - 3 µm breit zylindrisch, glattwandig, hyalin
Phialiden		7 - 10 µm lang 2 - 2,5 µm breit 3 - 6 entstammen einer Metula
Metula		8 - 15 µm schlank, flaschenförmig

(Dermoumi, 2008; URL41, 1999; URL42, 2014; URL43, 2012)

Das bekannte Mykotoxin dieser Art ist das Neurotoxin. Die Kultur wächst sehr schnell und entwickelt dabei einen aromatisch-würzigen Duft. Der Agar verfärbt sich beim Wachstum um die Kolonie gelb.

#### 5.14 *Penicillium funiculosum*

**Tabelle 15: Ergebnissteil von *Penicillium funiculosum***

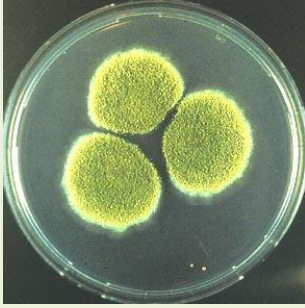
	Makroskopisch	Mikroskopisch
Darstellung		
Oberseite	anfangs weiß, aus dem Zentrum grünlich radiäre Furchen, leicht rötliche Exsudate	(Watanabe, 2010)
Hyphen		glattwandig, septiert
Konidien		oval mit spitz zulaufenden Enden
Phialiden		3 - 6 µm, aus einer Metula, flaschenförmig

(URL44, 1999; Watanabe, 2010)

Weitere Informationen etwa zur Pathogenese oder auffallenden Wachstumseigenschaften konnten nicht in Erfahrung gebracht werden.

### 5.15 *Penicillium glaucum*

**Tabelle 16: Ergebnissteil von *Penicillium glaucum***



	Makroskopisch
Darstellung	
Oberseite	anfangs weiß später grün, radiäre Falten

(Watanabe, 2010; URL45, 2014)

Diese *Penicillien*-Art ist sehr selten aufzufinden und liefert daher sehr wenige Informationen.

### 5.16 *Trichoderma harzianum*

**Tabelle 17: Ergebnissteil von *Trichoderma harzianum***

	Makroskopisch	Mikroskopisch
Darstellung		
Oberseite	anfangs weiß, später von innen heraus olivgrün	

(URL46, 2014; URL47, 2007; URL48, 2014)

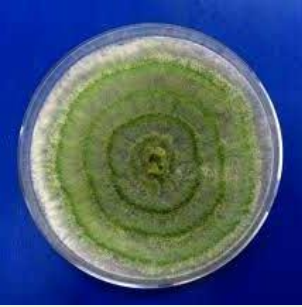
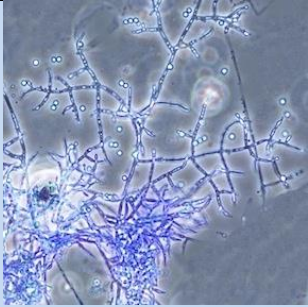
Bei *Trichoderma harzianum* handelt es sich, wie auch bei *Penicillium glaucum*, um eine wenig bekannte Art, weshalb sich die Informationen dieser Schimmelpilzart auf ein Minimum reduziert.

### 5.17 *Trichoderma viride*

*Trichoderma viride* zählt zu den Arten die schnell wachsen.

Die beiden Arten *Trichoderma harzianum* (Punkt 5.16) und *viride* sind eng miteinander verwandt. Eine mögliche Differenzierung ist nur molekularbiologisch möglich.



**Tabelle 18: Ergebnisteil von *Trichoderma viride***

	Makroskopisch	Mikroskopisch
Darstellung		
Oberseite	weißer Außenring, grünes Zentrum, reisterrassenartiges Wachstum	
Hyphen		glattwandig, septiert, hell olivgrün, 3,1 - 5,0 µm
Konidien		3,6 - 4,5 µm x 4,8 µm keulenförmig, geraut, grünlich bis grün
Konidiophore		pyramidenförmig verzweigt
Phialiden		2,5 - 3,0 µm flaschenförmig


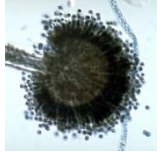
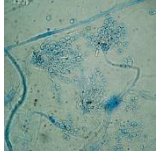
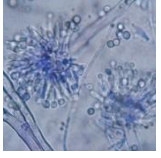

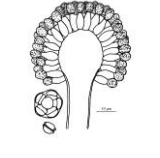

(URL49, 1999; URL50, 2012; URL51, 2012; URL52, 2014)

In den folgenden Tabellen wird ein Vergleich zwischen gleichen Gattungen angestellt.

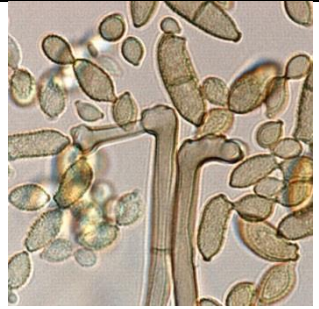
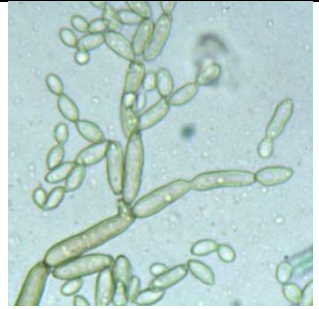
**Tabelle 19: Mikroskopischer Vergleich von *Alternaria***

Schimmelpilz	<i>A. alternata</i>	<i>A. tenuissima</i>
mikroskopisches Bild		
Konidien	bis 50 µm lang 3 - 10 mal quer unterteilt 1 - 5 mal längs unterteilt bootförmig	bis 95 µm lang 8 - 15 Konidienketten 3 - 10 mal quer unterteilt 1 - 5 mal längs unterteilt keulenförmig
Konidiophore	bis 50 µm lang	bis 70 µm lang

**Tabelle 20: Mikroskopischer Vergleich von *Aspergillus***

Schimmelpilz	<i>A. penicilliodies</i>	<i>A. niger</i>	<i>A. glaucus</i>	<i>A. versicolor</i>
mikros. Bild				
Bestimmungs- schlüssel				
Konidien	3,0 - 4,3 µm ellipsoid rau-wandig	3,5 - 5 µm rund rau-wandig	5 - 7 µm rund - oval stachelig	2,0 - 3,5 µm rund rau-wandig
Konidiophore	150 - 300 µm glattwandig	400 - 3000 µm glattwandig	700 - 800 µm glattwandig	200 - 400 µm glattwandig
Phialiden	5,5 - 11,0 x 2,7 - 3,6 µm	dicht gereiht	oberes Drittel des Vesikels	5 µm rund
Vesikel	10 - 20 µm birnenförmig	50 - 100 µm kugelförmig	15 - 30 µm rund	10 - 16 µm rund - oval

**Tabelle 21: Mikroskopischer Vergleich von *Cladosporium***

Schimmelpilz	<i>C. herbarum</i>	<i>C. cladosporides</i>
mikroskopisches Bild		
Konidien	4,0 - 8,0 µm länglich oval	5,8 - 6,8 x 2,5 - 3,5 µm ellipsoid bis fusiform
Konidiophore	bis 250 µm lang	bis 350 µm lang
Rami	6,0 - 36,0 x 4,0 - 8,0 µm zylindrisch bis keulenförmig	10,5 - 14,4 x 3,2 - 3,8 µm zylindrisch

Der Vergleich erfolgte bei den Gattungen, bei denen für eine Gegenüberstellung ausreichend Informationen über die Pilzelemente vorhanden waren.

## 6 Diskussion

Zurzeit gibt es hauptsächlich Nachschlageregister für humanpathogene Schimmelpilze. Doch der humane Organismus hat nahezu überall Berührungspunkte diesen Pilzen auch wenn diese nicht immer direkt Erkrankungen auf der Haut und den Nägeln auslösen, gelange sie doch in unseren Organismus und können hier unkontrolliert wuchern. Deshalb ist es wichtig, sich auch über andere Schimmelpilze, solche die z.B. Leder oder Holz befallen, Ernteerträge ruinieren aber auch an Mauerwerken wachsen, informieren zu können und diese gegebenenfalls identifizieren zu können. Die Möglichkeiten dazu verlaufen sich auf Bücher und Zeitschriften oder aber über das Internet. Die Informationen dazu sind meist sehr gering bis nicht vorhanden oder man muss sehr viel Geld für einen Wissenserwerb bezahlen. Mit einer freizugänglichen Webseite bietet sich dabei die Möglichkeit jeden zu erreichen und gleich zeitig stets aktuell zu sein. Dabei sollte jedoch auf keinen Fall die Pathogenität außen vor gelassen werden. Es ist wichtig über ein mögliches Risiko der Schimmelpilze Bescheid zu wissen um Sicherheitsmaßnahmen zum Schutz zu ergreifen. Die im Rahmen dieser Arbeit angelegte Webseite bietet leider nur einen kleinen Einblick in die Thematik. Durch das Zusammentragen mehrerer Informationen könnte so der beschriebene Informationsassistent entstehen.

Die makros- und mikroskopischen Eigenschaften der jeweiligen Schimmelpilze bieten dabei auch kleinen Laboren die Möglichkeit, Bestimmungen durchzuführen. Zu dem bieten die Informationen auf molekularer Ebene eine Aussage bei fragwürdigen bzw. nicht eindeutigen Ergebnissen. Durch die Erstellung von Schablonen soll die Bestimmung der Schimmelpilzarten erleichtert werden. All die beschriebenen Sachverhalte führen dazu, dass nicht nur eine starre Datenbank vorliegt, sondern viel mehr ein Assistent der eine Hilfe bei der Bestimmung der Schimmelpilze darstellt.

Im direkten Vergleich der Gattungen, kann man bei *Alternaria* eine gute mikroskopische Abgrenzung feststellen. Dabei bemerkt man den Unterschied bereits bei ersten Betrachten des mikroskopischen Bildes, anhand der Wuchsart. Auch die Angabe der Form und Größen bei Konidien und Konidiophore zeigen starke Differenzen, so dass eine reine mikroskopische Differenzierung ausreichend wäre.

Der Vergleich der *Aspergillus*-Arten zeigt ein ähnliches Muster wie das von *Alternaria*. Durch den Bestimmungsschlüssel lässt sich das wichtigste Pilzelement hervorheben und liefert so eine genauere Erfassung des vorliegenden mikroskopischen Bildes. Auch die Größenangaben der einzelnen Pilzelemente weisen teilweise Unterschiede auf. Zum Teil überlappen die Angaben jedoch, so dass man die anderen Pilzelemente unbedingt zum Ausschluss differenzieren muss.

Bei *Cladosporium* gibt das reine mikroskopische Bild von der ersten Betrachtung her keine genaue Auskunft über den Unterschied der beiden vorgestellten Arten. Erst durch das Ausmessen der Pilzelemente kann eine genaue Identifizierung stattfinden.

Die Schimmelpilzarten die im Ergebnisteil nicht im Vergleich betrachtet wurden geben nur wenig bis keine Auskunft über den reinen mikroskopischen Vergleich. Ursache dafür ist jedoch nicht, dass solch ein Vergleich nicht möglich wäre, sondern viel mehr, dass die Informationen dieser Schimmelpilze nur unzureichend zu erhalten sind bzw. die einzelnen Pilzelemente zu stark differieren. Durch eine Schablone kann dies ausgeglichen werden. Dies ist jedoch nur bei markanten Unterschieden in den Arten möglich.

## 7 Ausblick

### 7.1 Datenbank

Die Informationen die sich derzeit auf der Webseite befinden, sind direkt in HTML-Dokumenten integriert (statisch). Dadurch können die Daten nicht an gewünschten Stellen der Webseite aufgerufen werden. So kann keine Interaktion mit Entwickler und auch nicht mit dem Nutzer stattfinden. Zudem sind die Informationen nicht zentral hinterlegt, sondern in unterschiedlichen HTML-Dokumenten abgespeichert. Für optimale Aufrufe sollten die Daten in eine Datenbank integriert werden. Dieser Schritt vereinfacht die elektronische Datenverwaltung, vermeidet ungewollte redundante Einträge und ermöglicht eine strukturierte Speicherung der Daten. Die Verwaltung einer Datenbank kann über das relationale Datenbankverwaltungssystem (DBMS) *MySQL* realisiert werden. Das open Source DBMS ist für dynamische Webauftritte ausgelegt und wird in Verbindung mit der Skriptsprache PHP eingesetzt. Die Daten der Datenbank könnten über die Datenbanksprache SQL abgefragt und bearbeitet (Löschen, Einfügen, Verändern) werden.

Für die Umsetzung der Datenbank müssen eine Datenbasisstruktur erstellt, Relationen bestimmt, die Primärschlüssel/Sekundärschlüssel gesetzt und die Datentypen festgelegt werden. Über ein Entity-Relationship-Diagramm (ER-Diagramm) können die Entitätstypen und Beziehungstypen des Datenmodells grafisch dargestellt werden. Nach der Erzeugung der Datenbank sollten die Informationen in diese integriert werden. Danach sind diese aufrufbar. Die *MySQL*-Datenbank kann schließlich mit PHP-Skripten angesprochen werden. Hierzu muss eine Verbindung aufgebaut, die Datenquelle gewählt und Verbindung wieder geschlossen werden. Diese Aufrufe sollten in die HTML-Dokumente eingebettet werden.

Man könnte überlegen eine Benutzerschnittstelle einzurichten, die es den Institutsmitarbeitern ermöglicht, Informationen direkt auf die Webseite hinzuzufügen. Dabei sollte es möglich sein, Bilder mutierter Schimmelpilze, makros- und mikroskopische Bilder einzuspeisen sowie diese nach Bedarf zu beschriften. Ein bioinformatischer Service könnte für eine Bilderkennung und Schablonenerzeugung nützlich sein.



## **7.2 Taxonomie**

Es gibt verschiedene, Varianten wie ein taxonomischer Baum dargestellt werden kann. Dabei sollten für die Darstellungen der Bäume der differenten Regionen und auch Gattungen Darstellungsformen gewählt werden, die allgemein verständlich sind und gleichzeitig die wichtigsten Informationen zum Ausdruck bringen. Dazu können die Distanzen an den Ästen und die Beschreibung der Gattungen (bzw. Arten) sowie die betrachtete Region am Ende aufgeführt werden. Zudem sollte die eigentliche Baumform überdacht werden. Durch das Newick-Format können verschiedene Graphiken realisiert werden. Die Auswahl fällt dabei vom allgemeingebräuchlichen Typ (Phylogramm mit basaler Tritomie) bis hin zum geschwungenen optisch interessanter gestaltenden Baum („curved“ Optik). Außerdem kann man überlegen, verschiedene (zusammengehörige) Astgruppen einzufärben, um einen besseren und schnelleren Überblick zu erhalten.

## **7.3 Detaillierte Abbildungen und Schablonenerzeugung**

Durch die Gewinnung eigener makros- und mikroskopischer Abbildungen, kann der Informationsgehalt erhöht werden. Gerade bei Schimmelpilzarten, die sehr selten vorkommen. Zudem könnten zusätzliche Abbildungen markanter Pilzelemente vergrößert dargestellt werden. Dadurch könnten die Pilzelemente ausgemessen und bewertet werden. Die daraus gewonnen Informationen könnten direkt auf die Webseite übertragen werden und so für die Differenzierung der einzelnen Schimmelpilzarten zur Verfügung stehen.

Aus den mikroskopischen Abbildungen können angepasste und genaue Schablonen erstellt werden. Dies kann man durch das Rendern der mikroskopischen Bilder erzielen. Da die derzeitigen schematischen Abbildungen (Differenzierungsmerkmale) von Hand (oder am Computer) gezeichnet werden, unterliegen diese sehr oft den subjektiven Betrachtungsweisen der „Zeichner“. Könnte die Schablone durch einen Renderer erzeugt werden, würde man ein völlig objektives Bild erhalten, welches dem „natürlichen“ Aussehen im mikroskopischen Bild nahe kommt und somit die Differenzierung vereinfacht.

#### **7.4 Stoffwechselbetrachtung und Mutanten**

Um das Verständnis über sich plötzlich ausbildende Mutanten zu erlangen, wäre es sinnvoll, die Stoffwechselwege der einzelnen Schimmelpilze zu betrachten. Durch verschiedene Tests kann man die Erkenntnis über eine mögliche Ursache für Mutanten gewinnen, in dem z.B. dem Nährmedium verschiedene Stoffe entfernt oder zugesetzt werden. Weiterhin ist es wichtig, die Lagerbedingungen in Erfahrung zu bringen.

## 8 **Fazit**

Die mikroskopische Differenzierung von Schimmelpilzarten ist die schnellste und kostengünstigste Variante und mit der passenden Bestimmungshilfe gut durchführbar. Doch nicht in jedem Fall kann man von molekularbiologischen Methoden absehen. Zum Beispiel bei der Betrachtung von *Trichoderma harzianum* und *viride* kann man keine hundertprozentige Artbestimmung liefern, da die beiden Schimmelpilze sehr eng verwandt sind und sich nur marginal unterscheiden.

Durch die Umsetzung auf der Webseite, konnten Ergebnisse von Differenzierungsmethoden zusammengetragen und auf übersichtliche Weise dargestellt werden. Die makroskopischen Koloniebilder dienen der ersten Orientierung. In diesem Schritt werden zusätzlich noch andere Charakteristika wahrgenommen. Insofern Informationen dazu vorlagen, wurden diese unter „Zusatzinformation“ vermerkt. Als nächstes erfolgt die Präparation der Schimmelpilze zur Vorbereitung der mikroskopischen Differenzierung. Markante Pilzelemente helfen in diesem Teil bei der Identifizierung und reichen häufig bis zu vollständigen Artbestimmung. Wie bereits angedeutet, ist dies nicht der Regelfall und eine Bestimmung durch die herkömmlichen Methoden begrenzt. Dann kommen z.B. molekularbiologische Methoden zum Einsatz die das eindeutige Ergebnis liefern sollen. Durch verschieden Regionen auf der rDNA, die sich zwischen den Arten unterscheiden, können die einzelnen Arten differenziert werden.

Für eine schnellere und genauere Differenzierung der Schimmelpilze ist die Auswertung und Aufbereitung von eigenem Material wichtig. Über die gewonnen Informationen kann ein angepasster Bestimmungskatalog in elektronischer Form erstellt und für die freie Nutzung angeboten werden.

## 9 **Summary**

The microscopic differentiation of types of mold is the fastest and most cost-effective and well carried out using the appropriate determination. But not in every case can be seen off by molecular biological methods. For example, in the contemplation of *Trichoderma harzianum* and *viride*, you can deliver no wholly-owned art provision because the two fungi are very closely related and differ only marginally. By the implementation on the Web page, results of differentiation methods could be collected and presented in a clear way. The macroscopic colony images are the first orientation. In addition other characteristics are perceived in this step. Insofar information about exist, these were recorded under "Additional information". Next, the preparation of the molds for the preparation of microscopic differentiation takes place. Distinctive fungal elements help identification and rich often up to full art provision in this part. As already indicated this is not the norm and limits a determination by the conventional methods. So E.g. molecular methods used to delivering the unique result. At the hands of differences on rDNA, its different between species, each species can be differentiated. For a faster and more accurate differentiation of the molds, the evaluation and treatment of his own material is important. About the gained information a customized catalog in electronic form can be created and offered for free use.

## **10 Anhang**

CD

Masterarbeit

Webseite

Abbildungen

## 11 Literaturverzeichnis

- Aign, V. (21. Februar 2002). Physikalische Kratierung und Genexpressionsanalysen im Genom von *Neurospora crassa*. *Dissertation*. Konstanz, Baden-Württemberg, Deutschland: Mathematisch-Naturwissenschaftliche Sektion - Fachbereich Biologie.
- ArgoAtlas. (2009). *Economic Plants and their Diseases, Pest and Weeds*. Abgerufen am 20. März 2014 von [http://www.agroatlas.ru/en/content/diseases/Hordei/Hordei\\_Alternaria\\_alternata/](http://www.agroatlas.ru/en/content/diseases/Hordei/Hordei_Alternaria_alternata/)
- B. Neumeister, H. K. (2009). *Mikrobiologische Diagnostik*. Stuttgart: Thieme Verlag Kg.
- C. Seebacher, R. B.-H. (1990). *Mykosen - Epidemiologie - Diagnostik - Therapie*. Jena: Gustav Fischer Verlag.
- Cannon, P. (November 2009). *Datenbank: Fungi of Great Britain and Ireland*. Abgerufen am 20. März 2014 von Alternaria: <http://fungi.myspecies.info/taxonomy/term/4062/media>
- D. H. O'Day, P. A. (1981). Sexual Interactions in Eukaryotic Microbes. In *Sex Pheromones in Mucor - Part II* 8. New York: Academic Press, Inc.
- Dermoumi, H. (2008). *Bestimmungsbuch für Pilze in der Medizin*. Berlin: Lehmanns Media.
- Fromme, H. (2010). Toxikokinetik - Resorption und Verteilung. In *Praxishandbuch Schadstoffe* (S. 88 - 89). Berlin: Books on Demand GmbH.
- (2007). Einteilung der Pilze. In G. Fuchs, *Allgemeine Mikrobiologie* (S. 65). Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- García-Romero MT, G.-M. J. (2011). Zygomycosis in Two Hematologic Cases. Mexico City, Mexico: Department of Dermatology.
- H. Kreisel, F. S. (1987). Methoden des mykologischen Laboratoriums. Stuttgart, Baden-Württemberg, Deutschland: Gustav Fischer Verlag.
- H.-J. Tietz, H. U. (1999). *Humanpathogene Pilze der Haut und Schleimhäute*. Hannover: Schlütersche.
- Hahn, K. (2009). *Medizinische Mikrobiologie und Infektologie*. Heidelberg: Springer 6. Auflage.
- Heise, F. (kein Datum). Subzelluläre Verteilung des zentralen Uhrenproteins FREQUENCY in der circadianen Uhr von *Neurospora crassa*. *Inaugural-*

- Dissertation*. Heidelberg, Baden-Württemberg, Deutschland: Ruprecht-Karls-Universität - Naturwissenschaftlich-Matematische Gesamtfakultät.
- Himedia. (Januar 2011). Technical Data. *Czapek Dox Agar* . Mumbai, India: HiMedia Laboratories.
- Hoc, S. (November 2002). *Schimmelpilzbefall in Innräumen nimmt zu*. Heft 44: Deutsches Ärzteblatt.
- Hof, H., & Dörries, R. (2009). *Medizinische Mikrobiologie*. Stuttgart: Thieme Verlag 4. Auflage.
- Leuchtmann, A. (August 2013). Mykologischer Feldkurs. *Teil Ascomyceten (Schlauchpilze)*.
- M. Kirchmair, U. P. (2001). Skriptum zu den Mikrobiologisch-Systematischen Übungen. Innsbruck, Universität Innsbruck, Institut für Mikrobiologie.
- Merck Millipore. (2013). Reisagar. *REF1461740020*. Darmstadt, Hessen, Deutschland: Merck KGaA.
- Merck Millipore. (4. März 2014). Malzextrakt-Agar. Darmstadt, Hessen, Deutschland: Merck KGaA.
- Mold Awareness . (2014). Newton Microbial Laboratory. *Cladosporium a Common Mold Spore*. <http://mold-awareness.org/category/general-info/>.
- Munk, K. (2008). Taschenlehrbuch der Biologie . In B. E. P. Dersch, *Mikrobiologie* (S. 140-189). Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- N. A. Campbell, J. B. (2009). Biologie. In C. W. Urry, *Pilze* (S. 858 - 880). München: Pearson Studium.
- N. Ranasingh, A. S. (October 2006). Use of Trichoderma in Disease Management. Dumduma -Bhubaneswar, India: Regional Centre of Central Tuber Crops.
- (2006). Pilze. In R. F. P. H. Raven, *Biologie der Pflanzen* (S. 337). Berlin: de Gruyter.
- Rüschendorf, A. (2007). *Medizinische Mykologie - Bestimmung und Differenzierung von Sprosspilzen, Schimmelpilzen, Dermatophyten und dimorphen Pilzen*. Barleben: Lehmanns Media 2. Auflage.
- Schmelz, D. M. (23. Juni 2009). Datenblatt Malzextrakt-Agar. Gesellschaft für angewandte Mikrobiologie.
- Sifin. (September 2008). Synthetischer Nährstoffarmer Agar (SNA). Berlin, Deutschland: Sifin.

- Silverside, A. J. (Januar 2011). *Biodiversity Reference*. Abgerufen am 20. März 2014 von *Alternaria tenuissima*:  
[http://bioref.lastdragon.org/anamorphic\\_fungi/Alternaria\\_tenuissima.html](http://bioref.lastdragon.org/anamorphic_fungi/Alternaria_tenuissima.html)
- Spektrum. (1999). *Trichoderma*.
- U. Kück, M. N. (2009). *Schimmelpilze - Lebensweise, Nutzen, Schaden, Bekämpfung*. Berlin: Springer - 3.Auflage.
- URL1. (28. Oktober 2009). *Tree of Life web project*. Abgerufen am 11. Februar 2014 von P. Keeling, B. S. Leander, A. Simpson:  
<http://tolweb.org/tree/phylogeny.html>
- URL10. (10. August 2005). *Pathogens of plants of Hawaii*. Abgerufen am 20. März 2014 von D. Gardner:  
[http://www.hear.org/pph/images/images/screensized/01\\_020.jpg](http://www.hear.org/pph/images/images/screensized/01_020.jpg)
- URL11. (November 2013). *Fun with Microbiology*. Abgerufen am 20. März 2014 von Yuri: <http://thunderhouse4-yuri.blogspot.ca/2013/11/eurotium-herbariorum-aspergillus-glaucus.html>
- URL12. (28. Juli 2013). *Toxic Black Mold Inspection, Testing, Removal, & Prevention*. Abgerufen am 20. März 2014 von *Aspergillus glaucus*:  
<http://www.mold.ph/aspergillus-glaucus.htm>
- URL13. (28. Juli 2013). *Toxic Black Mold Inspection, Testing, Removal, & Prevention* . Abgerufen am 20. März 2014 von *Aspergillus niger*:  
<http://www.mold.ph/aspergillus-niger.htm>
- URL14. (12. August 2014). *Mycology Online*. Abgerufen am 13. August 2014 von The University of Adelaide - *Aspergillus niger*:  
[http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal\\_Descriptions/Hyphomycetes\\_\(hyaline\)/Aspergillus/niger.html](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_(hyaline)/Aspergillus/niger.html)
- URL15. (1999). *Mycota - Fungal contaminants of cultural heritage*. Abgerufen am 20. März 2014 von *Aspergillus niger*: <http://mycota-crcc.mnhn.fr/site/specie.php?idE=94>
- URL16. (13. Juni 2010). *Fun with Microbiology*. Abgerufen am 20. März 2014 von *Aspergillus niger*: <http://thunderhouse4-yuri.blogspot.ca/2010/06/aspergillus-niger.html>
- URL17. (kein Datum). *microbotics*. Abgerufen am 20. März 2014 von  
<http://microbotics.com.ng/wp-content/uploads/2013/10/a-niger.jpg>
- URL18. (25. September 2012). *aspergillus niger Pictures and images*. Abgerufen am 20. März 2014 von photobucket:  
[http://i166.photobucket.com/albums/u84/apbio122/microbiology/a\\_niger\\_s.jpg](http://i166.photobucket.com/albums/u84/apbio122/microbiology/a_niger_s.jpg)



- URL19. (1999). *Mycota*. Abgerufen am 10. April 2014 von Fungal contaminants of cultural heritage: <http://mycota-crcc.mnhn.fr/site/microscopeImageDetail.php?i=13&lang=eng>
- URL2. (14. Januar 2012). *Illumina*. Abgerufen am 12. Februar 2014 von Illumina: <http://illumina-chemie.de/mikroorganismen-thread-t3139-s30.html>
- URL20. (28. Juli 2013). *Fun with Microbiology*. Abgerufen am 10. April 2014 von *Aspergillus versicolor*: <http://thunderhouse4-yuri.blogspot.ca/2013/07/aspergillus-versicolor.html>
- URL21. (29. Juli 2014). *Fungi of Great Britain and Ireland*. Abgerufen am 13. August 2014 von *Aspergillus versicolor* 1: <http://fungi.myspecies.info/file/956>
- URL22. (29. Juli 2014). *Fungi of Great Britain and Ireland*. Abgerufen am 13. August 2014 von *Aspergillus penicillioides* 2: <http://fungi.myspecies.info/file/949>
- URL23. (29. Juli 2014). *Fungi of Great Britain and Ireland*. Abgerufen am 13. August 2014 von *Aspergillus pnicillioides* 1: <http://fungi.myspecies.info/file/948>
- URL24. (1999). *Mycoty*. Abgerufen am 10. April 2014 von Fungal contaminants of cultural heritage: <http://mycota-crcc.mnhn.fr/image/ImageDesc/AureobasidiumPullulansMaltAgarRecto26.jpg>
- URL25. (29. Juli 2014). *Fungi of Great Britain and Ireland*. Abgerufen am 13. August 2014 von *Aureobasidium pullulans*: <http://fungi.myspecies.info/taxonomy/term/4262/media>
- URL26. (12. August 2014). *Mycology Online*. Abgerufen am 13. August 2014 von The University of Adelaide: [http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal\\_Descriptions/Hyphomycetes\\_\(dematiaceous\)/Aureobasidium/](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_(dematiaceous)/Aureobasidium/)
- URL27. (1999). *Mycota*. Abgerufen am 10. April 2014 von Les contaminants fongiques du patrimoine culturel: <http://mycota-crcc.mnhn.fr/site/imageDescDetail.php?i=93>
- URL28. (1999). *Mycota*. Abgerufen am 10. April 2014 von Fungal contaminants of cultural heritage: <http://mycota-crcc.mnhn.fr/site/imageMicroscopeDetail.php?i=16>
- URL29. (2014). *Myco Atlas - Universitätskrankenhaus Pilsen*. Abgerufen am 10. April 2014 von *Cladosporium herbarum*: [http://www.fnplzen.cz/mykoatlas/vlaknite/Clad\\_herbarum\\_ma\\_celk\\_1b.jpg](http://www.fnplzen.cz/mykoatlas/vlaknite/Clad_herbarum_ma_celk_1b.jpg)
- URL3. (19. September 2012). *Maxwell Handiseni*. Abgerufen am 20. Februar 2014 von MaxwellHandiseniPLPA631: [http://maxhandiseni.blogspot.de/2012\\_09\\_01\\_archive.html](http://maxhandiseni.blogspot.de/2012_09_01_archive.html)

- URL30. (1999). *Mycota*. Abgerufen am 13. August 2014 von Fungal contaminants of cultural heritage: <http://mycota-crcm.mnhn.fr/site/specie.php?idE=102>
- URL31. (2014). *Microfungal Research - Western New Mexico University*. Abgerufen am 10. April 2014 von *Epicoccum nigrum*: <http://show.wnmu.edu/microfungi/showGallery.php?div=Anamorphic&gen=Epicoccum&spec=nigrum&id=1552>
- URL32. (29. Juli 2014). *Fungi of Great Britain and Ireland*. Abgerufen am 12. August 2014 von *Epicoccum nigrum* 1: <http://fungi.myspecies.info/file/1012>
- URL33. (12. August 2014). *Mycology Online*. Abgerufen am 13. August 2014 von The university of Adelaide: [http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal\\_Descriptions/Hyphomycetes\\_\(dematiaceous\)/Epicoccum/](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_(dematiaceous)/Epicoccum/)
- URL34. (23. Juni 2012). *Fun with Microbiology*. Abgerufen am 20. März 2014 von *Fusarium oxysporum*: <http://thunderhouse4-yuri.blogspot.ca/2012/06/fusarium-oxysporum.html>
- URL35. (1999). K. Nishimura; A. Sano. Abgerufen am 20. März 2014 von *Fusarium oxysporum* Colony: [http://www.pf.chiba-u.ac.jp/gallery/fungi/f/Fusarium\\_oxysporum\\_colony.htm](http://www.pf.chiba-u.ac.jp/gallery/fungi/f/Fusarium_oxysporum_colony.htm)
- URL36. (12. August 2014). *Mycology Online*. Abgerufen am 13. August 2014 von The University of Adelaide: [http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal\\_Descriptions/Hyphomycetes\\_\(hyaline\)/Fusarium/oxysporum.html](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_(hyaline)/Fusarium/oxysporum.html)
- URL37. (12. August 2014). *Mycology Online*. Abgerufen am 13. August 2014 von The University of Adelaide: [http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal\\_Descriptions/Hyphomycetes\\_\(hyaline\)/Fusarium/solani.html](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_(hyaline)/Fusarium/solani.html)
- URL38. (1999). *Mycota*. Abgerufen am 20. März 2014 von Fungal contaminants of cultural heritage: <http://mycota-crcm.mnhn.fr/site/specie.php?idE=104>
- URL39. (1999). K. Nishimura. Abgerufen am 10. April 2014 von *Fusarium solani*: [http://www.pf.chiba-u.ac.jp/gallery/img/fungi/f/Fusarium\\_solani\\_colony.jpg](http://www.pf.chiba-u.ac.jp/gallery/img/fungi/f/Fusarium_solani_colony.jpg)
- URL4. (5. August 2014). *Mycology Online*. Abgerufen am 6. August 2014 von The University of Adelaide: [http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal\\_Descriptions/Hyphomycetes\\_\(dematiaceous\)/Epicoccum/](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_(dematiaceous)/Epicoccum/)
- URL40. (2012). *Project Life*. Abgerufen am 10. April 2014 von Student art Competitions 2012:

[http://projectlifecompetition.org/images/uploads/resources\\_gallery/Fusarium\\_solani.jpg](http://projectlifecompetition.org/images/uploads/resources_gallery/Fusarium_solani.jpg)

URL41. (1999). *Mycota*. Abgerufen am 20. März 2014 von Fungal contaminanta of cultural heritage: <http://mycota-crcm.mnhn.fr/site/specie.php?idE=106>

URL42. (2014). *Institut national de santé publique - Québec*. Abgerufen am 20. März 2014 von INSPQ - Public health expertise and reference centre: [http://www.inspq.qc.ca/moisissures/photos/penicillium\\_chrysogenum.jpg](http://www.inspq.qc.ca/moisissures/photos/penicillium_chrysogenum.jpg)

URL43. (8. September 2012). *Schimmelpilze und Hefen*. Abgerufen am 20. März 2014 von Wissen - Pilze und Schimmel: [http://scienceforlife.altervista.org/blog/wp-content/uploads/2013/01/2902232380\\_88e96dee32.jpg](http://scienceforlife.altervista.org/blog/wp-content/uploads/2013/01/2902232380_88e96dee32.jpg)

URL44. (1999). *Mycota*. Abgerufen am 10. April 2014 von Fungal contaminants of cultural heritage: <http://mycota-crcm.mnhn.fr/site/specie.php?idE=108>

URL45. (2014). *Fungi as Saprobies*. Abgerufen am 20. März 2014 von beneficial Activities of Saprobic Fungi: [http://www.angelfire.com/wizard/kimbrough/Textbook/IndustProductOfDrugs\\_blue.htm](http://www.angelfire.com/wizard/kimbrough/Textbook/IndustProductOfDrugs_blue.htm)

URL46. (2014). *Cornell University - College of Agriculture and Life Sciences*. Abgerufen am 20. März 2014 von Trichoderma spp., including T. harzianum, T. viride, T. koningii, T. hamatum and other spp. - Deuteromycetes, Moniliales (asexual classification system): <http://www.biocontrol.entomology.cornell.edu/images/pathogens/trichoderma1.jpg>

URL47. (2007). *Caltex Mold Services*. Abgerufen am 20. März 2014 von Environmentally Safe - Mold Remediation and Cleaning: <http://www.caltexmoldservices.com/files/mold/Images/mold-library-pictures/trichoderma.jpg>

URL48. (12. August 2014). *Mycology Online*. Abgerufen am 14. August 2014 von The University of Adelaide: [http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal\\_Descriptions/Hyphomycetes\\_\(hyaline\)/Trichoderma/](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_(hyaline)/Trichoderma/)

URL49. (1999). *Mycota*. Abgerufen am 10. April 2014 von Fungal contaminants of cultural heritage: <http://mycota-crcm.mnhn.fr/site/specie.php?idE=111>

URL5. (kein Datum). *Schimmel- Schimmelpilze- Schimmelpilzgifte*. Abgerufen am 6. August 2014 von Enius- Ingenieur- und Laborleistungen: <http://www.schimmel-schimmelpilze.de/aureobasidium.html>

- URL50. (2. Dezember 2012). *Fun with Microbiology*. Abgerufen am 10. April 2014 von Trichoderma species: <http://thunderhouse4-yuri.blogspot.ca/2012/12/trichoderma-species.html>
- URL51. (2012). *Ruchi Biochemicals*. Abgerufen am 10. April 2014 von Innovation in agriculture Biotechnology: <http://catalog.wlimg.com/1/334571/full-images/trichoderma-viride-fungicide-901910.jpg>
- URL52. (2014). *Université de bretagne occidentale*. Abgerufen am 10. April 2014 von Site de vulgarisation scientifique de l'Esmisab: [http://esmisab.univ-brest.fr/digitalAssetsUBO/8/8780\\_Trichod-27\\_a2c.jpg](http://esmisab.univ-brest.fr/digitalAssetsUBO/8/8780_Trichod-27_a2c.jpg)
- URL6. (kein Datum). *Alternaria alternata*. Abgerufen am 20. März 2014 von <http://alternaria.ru/index.files/identification.files/alt.jpg>
- URL7. (2014). *Alternaria tenuissima*. Abgerufen am 20. Mär 2014 von <http://alternaria.ru/index.files/identification.files/ten.jpg>
- URL8. (2014). *Alternaria tenuissima*. Abgerufen am 20. März 2014 von <http://alternaria.ru/index.files/identification.files/cultures-ten.jpg>
- URL9. (Oktober 2012). *Hornemann Institut*. Abgerufen am 20. März 2014 von HAWK Hochschule für angewante Wissenschaft und Kunst: [http://193.175.110.9/hornemann/german/dipl\\_abb/Tesa6\\_AspERG\\_Glaucusa.jpg](http://193.175.110.9/hornemann/german/dipl_abb/Tesa6_AspERG_Glaucusa.jpg)
- Watanabe, T. (2010). *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi*. London: Taylor and Francis Group, LLC.

**Selbstständigkeitserklärung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe.

Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus Quellen entnommen wurden, sind als solche kenntlich gemacht.

Diese Arbeit wurde in gleicher oder ähnlicher Form noch keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Mittweida den 25. August 2014

Fröbel, Sarah